Agrikulturchemische Untersuchungen

über die

Veränderungen einiger Nährböden durch die Einwirkung landwirtschaftlich wichtiger Bakterien.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen philosophischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt von

Otto Biernath
Apotheker und Nahrungsmittelchemiker
aus Osterode (O.-Pr.).

ROSTOCK
1897.

Referenten: Prof. *Heinrich* und Prof. *Michaelis*.

Seinem hochverehrten Chef und Lehrer

Herrn Prof. Dr. Th. Dietrich

Vorsteher der landwirtschaftl. Versuchsstation zu Marburg

in Dankbarkeit gewidmet

vom

Verfasser.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552725_0142

Das Interesse, welches besonders seit den grundlegenden Arbeiten *Robert Koch*'s den Spaltpilzen entgegengebracht wird, hat durch das in den letzten Jahren ausserordentlich geförderte Studium der Physiologie ganz bedeutend zugenommen. Seit langem ist es bekannt, dass die fäulniserregenden Bakterien den Abbau complicierter organischer Verbindungen pflanzlichen und tierischen Ursprungs, besonders der Eiweissstoffe, besorgen und dadurch ein wichtiges Glied jener Faktoren darstellen, welche den Kreislauf der Stoffe bedingen. Im höchsten Grade aber muss das Interesse des Laien sowohl wie des Naturforschers erregt werden durch jene eigentümliche Kraft, welche die im Bau und in der Zusammensetzung grosse Uebereinstimmung zeigenden, auf der niedrigsten Stufe pflanzlicher Entwicklung stehenden Lebewesen befähigt, die verschiedenartigsten chemischen Wirkungen zu äussern. Die Bildung glänzender, den Anilinfarben an Intensität gleichkommender Farbstoffe, die Entwicklung übelriechender oder das menschliche Geruchsorgan angenehm beeinflussender Riechstoffe, die Entstehung einer grossen Anzahl von Säuren, Basen, Alkoholen, Kohlenwasserstoffen und anderen organischen Körpern, die Phosphorescenzerscheinungen, die Gasentwicklung, die Bindung des freien Stickstoffs der Luft — alle diese Erscheinungen und Prozesse, welche durch die kleinen Bakterienleiber hervorgerufen werden, verdienen nicht nur die höchste Beachtung des Bakteriologen von Fach, sondern auch ganz besonders die des Chemikers.

Muss es den chemischen Forscher nicht mit dem grössten Erstaunen erfüllen, dass der freie Stickstoff der Luft, welchen er nur mit Hilfe des elektrischen Funkens oder hoher Temperatur zu Verbindungen mit anderen Elementen zwingen kann, dass dieses so wenig reaktionsfähige Gas durch die Thätigkeit der sogenannten Leguminosenbakterien fixiert und in eine von der Pflanze resorbierbare Form übergeführt wird? In Beachtung aller dieser Thatsachen muss man zu

der Erkenntnis kommen, dass von Seiten der Chemiker den chemischen Wirkungen, welche die Bakterien äussern, den Veränderungen, welchen die Substrate ausgesetzt sind, noch zu wenig Bedeutung beigelegt wird.

Die nachfolgende Arbeit soll einen Beitrag zu dem Chemismus der Leguminosenbakterien und einiger anderer Mikroorganismen des Bodens liefern. Dieselbe beschränkt sich nicht auf die Betrachtung der Veränderungen einzelner Stoffe durch die Lebensthätigkeit der Bakterien, sondern das Verhalten sämtlicher in dem künstlichen Nährboden vorhandenen wichtigeren Stoffe ist in dieser Hinsicht qualitativ und quantitativ geprüft worden.

Die Litteratur bietet wenig Beispiele von ähnlichen Untersuchungen. Meist sind es einzelne Stoffe, auf welche sich bei Anstellung derartiger Versuche das Augenmerk des Bakteriologen, des Mediciners, des Technikers gerichtet hat. Zu erwähnen wären die Arbeiten von *Th. Dietrich* (Bericht über die 11. Versammlung der freien Vereinigung bayerischer Vertreter der angewandten Chemie) und *A. Hebebrand* (Hygienische Rundschau 1892, Nr. 24; Landwirtschaftliche Versuchsstationen Bd. 42), sowie die von *Welte* (Archiv für Hygiene Bd. 24), welche die Einflüsse von Reinkulturen der Schimmelpilze, Penicillium glaucum und Aspergillus glaucus, auf Brot studiert und die Veränderung der einzelnen Stoffe des Substrats erforscht haben. Die genannten Forscher haben eine Trennung des Pilzes von dem Substrat nicht ausgeführt. Auch in vorliegender Arbeit ist das nicht geschehen, sondern die Bakterien sind samt dem Nährboden der Untersuchung unterworfen worden. Diese Arbeitsweise war geboten, da die Bakterienleiber ja aus dem Nährboden unter Mitwirkung des Sauerstoffs hervorgegangen sind, also in gewissem Sinne umgewandelte Nährböden darstellen.

Es versteht sich bei der Mannigfaltigkeit der chemischen Wirkungen der Bakterien von selbst, dass dergleichen Arbeiten nur mit Reinkulturen ausgeführt werden können. Auch in der vorliegenden Arbeit sind nur Reinkulturen zur Verwendung gelangt und zwar von den später benannten landwirtschaftlich wichtigen Bakterienarten.

Bacillus Radicicola Beyerinck.

Der Bacillus Radicicola wurde zuerst im Jahre 1888 von *M. W. Beyerinck* (Botan. Zeitung 1888) in den Wurzelknöllchen der Leguminosen nachgewiesen. Diese Wurzelknöllchen sind stecknadelkopf- bis haselnussgrosse Auswüchse, welche hervorgerufen werden durch das Eindringen der erwähnten Bacillen in die Wurzeln, wo die Mikroorganismen sich stark vermehren, in schlauchartigen Massen weiterwachsen und von der Wirtspflanze mit einem Gewebe umgeben werden. Diese Symbiose der Bakterien mit den Leguminosen kommt letzteren ausserordentlich zu statten, indem durch die Einwirkung des Protoplasmas auf die durch Platzen der erwähnten Schläuche freigewordenen Bakterien die letzteren zu sog. Bakteroiden — gabelförmig verzweigten Bakterien — verwandelt werden, welche sehr bald der Resorption des Zellsaftes unterliegen.

Vom Bacillus Radicicola gaben sowohl sein Entdecker *Beyerinck* (Bot. Zeitung 1888, 758) als auch *A. Prazmowski* (Landw. Versuchsstationen Bd. 37, 201) Beschreibungen. Nach diesen Forschern haben die Bacillen die Gestalt von Stäbchen, welche öfters zu zweien, seltener zu dreien oder vieren kettenförmig verbunden sind. Die Länge schwankt zwischen 4 μ bis 0,9 μ, die Dicke zwischen 1 μ bis 0,19 μ. Eine Sporenbildung haben die genannten Forscher nicht beobachtet.

Auf der gewöhnlichen Fleischwassergelatine wächst Bacillus Radicicola schlecht. Am besten gedeiht er nach *Beyerinck* (a. a. O. 1888, 744) in einer Abkochung von Leguminosenkraut, welcher etwas Zucker, Asparagin und Apfelsäure zugesetzt ist. Kommt zu diesem Gemisch Gelatine hinzu, so erhält man einen festen Nährboden, auf welchem die Bakterien schon einige Tage nach erfolgter Infektion sichtbare Kolonien in Form von kleinen weisslichen Punkten bilden. Die Kolonien vergrössern sich allmählich und bilden sphärische oder länglich-ovale, milchweisse und perlmutterartig glänzende Tropfen, welche mit zunehmendem Alter ein

mehr mattes, wässeriges Aussehen bekommen. In gelatinefreien Nährlösungen machen sich die Anfänge einer Bakterienvegetation drei bis vier Tage nach der Impfung durch leichte Trübung bemerkbar. Bei sorgfältiger Beobachtung kann man auf der Oberfläche der Flüssigkeit dünne, schwach irisierende Häutchen bemerken, welche schliesslich eine zusammenhängende dünne Decke bilden. Nach und nach trübt sich die anfangs klare Flüssigkeit stark und klärt sich erst wieder unter Abscheidung eines flockigen Bodensatzes, wenn die Bacillen absterben.

Was dem Bacillus Radicicola ganz besonders das Interesse weitester Kreise sichert, das ist seine Symbiose mit den Leguminosen und die aus derselben resultierende Fixierung des atmosphärischen Stickstoffs. Schon den Landwirten des Altertums war die Anreicherung des Bodens durch die Leguminosen bekannt, sowie dass die mit letzteren bestellten Felder einer Stallmistdüngung nicht bedürfen. Es hat an Hypothesen zur Erklärung dieses eigentümlichen Verhaltens der Leguminosen nicht gefehlt, aber erst die neuere Zeit hat, dank der Entwicklung der Bakteriologie, eine genügende Erklärung der Vorgänge bei der Entwicklung der Leguminosen gebracht. Vor allem waren es die Arbeiten von *H. Hellriegel*[1]) und *H. Wilfarth* (Zeitschr. des Vereins f. d. Rübenzuckerindustrie, Nov. 1888, Beilageheft), welche bahnbrechend in dieser Hinsicht wirkten. Auf Grund einer grossen Anzahl exakt ausgeführter Versuche mit sterilisierter und geimpfter Erde kamen diese Forscher zu dem Ergebnis, dass die Leguminosen unter Beteiligung von lebensthätigen Mikroorganismen durch Vermittlung der Wurzelknöllchen eine Bindung des Stickstoffs der Luft bewirken und so auf dem Wege der Symbiose den freien Stickstoff der Luft ihren Wirtspflanzen für Ernährungszwecke dienstbar machen.

Bald nach dem Erscheinen der Arbeit von *Hellriegel* und *Wilfarth* gelang es *Beyerinck*, in den Wurzelknöllchen die oben beschriebenen Bacillen aufzufinden und in Reinkulturen zu züchten, während es *Prazmowski* vorbehalten blieb, durch Kulturversuche nachzuweisen, dass der Bacillus Radicicola der Urheber der Entstehung der Wurzelknöllchen ist. Eine grosse Anzahl von Agrikultur-Chemikern hat sich seitdem mit diesem wichtigen Bacillus und der Frage der

---

[1]) Die erste Mitteilung über diese Entdeckung geschah Sept. 1886 auf der Naturforscherversammlung in Berlin.

Fixierung des Stickstoffs durch die Pflanzen beschäftigt. Zumeist wurden die Arbeiten der vorgenannten Forscher bestätigt.

Es hat aber auch nicht an Gegnern der *Hellriegel*'schen Anschauung gefehlt und erst neuerdings sucht *Stoklasa* (Landwirtschaftl. Jahrbücher 1895, 862) nachzuweisen, dass es allen Pflanzen möglich sei, mit Hilfe des Protoplasmas den Stickstoff der Luft zu assimilieren.

Besonders interessant sind auch die Resultate der Arbeiten von *F. Nobbe* und seinen Mitarbeitern, vornehmlich *L. Hiltner*. Dieselben haben gefunden, „dass die Impfung eine stärkere vegetative Wirkung ausgeübt hat, als eine reichliche Düngung mit Ammoniak bezw. Salpetersäure" (Landw. Versuchsstationen Bd. 39, 341), und „dass alle von ihnen geprüften Knöllchenbewohner der verschiedenen Leguminosen, selbst der Mimosaceen, einer Art: Bacillus Radicicola Beyerinck angehören. Dieselbe wird jedoch durch die Pflanze, in deren Wurzel sie lebt, so energisch beeinflusst, dass ihre Nachkommen volle Wirkungsfähigkeit nur noch für jene Leguminosenart besitzen, zu welcher die Wirtspflanze gehört, für alle übrigen dieselbe aber mehr oder minder verlieren" (Landw. Versuchsstationen Bd. 45, 25).

Dann haben *Nobbe* und *Hiltner* die Ergebnisse der bisherigen Forschungen für die landwirtschaftliche Praxis nutzbar gemacht. Unter dem Namen „Nitragin" lassen sie von den Farbwerken vorm. Meister, Lucius und Brüning in Höchst a. M. Reinkulturen der einzelnen Formen von Bacillus Radicicola darstellen, welche bestimmt sind, als Impfdünger der mit Leguminosen zu bestellenden Felder zu dienen.

Die vorstehend erwähnten und mehrere andere Arbeiten haben unsere Kenntnis über die Morphologie der Leguminosenbakterien, sowie über deren Verhalten zu den höheren Pflanzen ausserordentlich gefördert. Dagegen sind die Angaben über die chemische Wirkung der Leguminosenbakterien noch sehr spärlich, obwohl die wichtigste Lebensäusserung dieser Mikroorganismen, die Fixierung des freien Stickstoffs der Luft, doch eine chemische Funktion ist.

Ueber die chemischen Wirkungen der Leguminosenbakterien in Reinkultur auf den Nährboden hat hauptsächlich *Beyerinck* (Bot. Zeitung 1888, 797) gearbeitet.

Auf Grund seiner Forschungen spricht er diesen Bakterien jede grössere Einwirkung auf den Nährboden ab. Vor allen Dingen ist es ihm nicht gelungen, eine Nitrat-

bezw. Nitritbildung zu konstatieren. Ferner hat er beobachtet, dass Bacillus Radicicola keine „besonderen“ Gährungen, keine „besonderen“ Oxydationserscheinungen und keine Reduktionen weder von Salpeter noch von Indigoblau hervorruft. Aus Wasserstoffsuperoxyd wird dagegen reichlich Sauerstoff abgespalten. Durch Versuche hat *Beyerinck* ferner nachgewiesen, dass Bacillus Radicicola weder Invertin noch Diastase erzeugt, weder Cellulose verflüssigt noch Stärke verändert. Auf Grund späterer Versuche (Bot. Zeit. 1890) betont *Beyerinck,* dass die Leguminosenbakterien zur Nitrat- und Nitritbildung keine Veranlassung geben. Nur in mehrjährigen Kulturen von Bac. Rad. var. Ornithopi, welchen Pepton, Asparagin und Zucker als Nahrung gedient hatte, war eine Reaktion mit Diphenylamin eingetreten. Weiter sagt *Beyerinck* (Bot. Zeit. 1888, Abschn. 13): „Wie unwahrscheinlich es auch a priori erscheinen dürfte, dass ein Organismus mit solchen schwachen chemischen Aeusserungen wie Bacillus Radicicola im Stande wäre, Ammoniaksalze zu Nitraten zu oxydieren oder den freien Stickstoff der Atmosphäre als Körpereiweiss festzulegen, so schien es mir doch geboten, darüber durch Versuche Sicherheit zu erlangen.“

Die in dieser Hinsicht angestellten Versuche *Beyerinck*'s ergaben kein absolut sicheres Resultat, indem er anfangs (Bot. Zeit. 1888, 798) keine Stickstoffzunahme konstatieren konnte, später aber (Versl. en Mededeel. d. K. Akad. van Wetensch. Amsterdam. Afd. Natuurkunde III. 8. 91) eine solche glaubt annehmen zu müssen. Das Plus von Stickstoff ist aber so gering, dass es meines Erachtens in die Fehlergrenzen fällt. Nach neuerdings angestellten Arbeiten der Versuchsstation zu Rostock (2. Bericht d. landw. Versuchsst. Rostock S. 272) fixieren die Leguminosenbakterien in Kartoffelkulturen n i c h t den freien Stickstoff der Luft.

Als wichtigstes Ergebnis der Forschungen über die Leguminosenbakterien ist unstreitig die Erkenntnis der Thatsache anzusehen, dass der elementare Stickstoff der Luft mit Hilfe gewisser Bakterienarten fixiert und den Pflanzen als Nährstoff zugeführt wird. Diese Ueberführung des elementaren Stickstoffs in resorbierbare Verbindungen lässt erkennen, dass die Lebensthätigkeit dieser Bakterien von energischen chemischen Prozessen begleitet ist. Um so auffallender müssen dagegen die oben erwähnten Angaben *Beyerinck*'s erscheinen, welcher Forscher den Leguminosenbakterien bedeutende chemische Wirkungen auf den ihnen

künstlich gebotenen Nährboden abspricht. Es erschien von wissenschaftlichem Interesse, diesen Widerspruch zu lösen und das Verhalten verschiedener Nährböden bei der Einwirkung der Leguminosen- und anderen Bodenbakterien zu studieren.

Zur Verwendung gelangten Reinkulturen folgender Bakterien:

Bac. Rad. var. Viciae villosae,
„ „ „ Viciae sativae,
„ „ „ Viciae Fabae,
„ „ „ Trifolii incarnati,
„ „ „ Trifolii pratensis,
„ „ „ Pisi sativi,
„ „ „ Medicaginis sativae,
„ „ „ Medicaginis lupulinae,
„ „ „ Lupini lutei,
„ „ „ Onobrychis sativae,
„ „ „ Lathyri silvestris,
ferner einer Subtilis-Art,
„ Proteus-Art und
„ Wurzelbacillus-Art.

Herstellung und Impfung der Nährböden.

Von Seiten der Höchster Farbwerke, welche die Züchtung und den Vertrieb der von *Nobbe* und *Hiltner* isolierten Varietäten des Bacillus Radicicola Beyerinck in die Hand genommen haben, wurden dem Verfasser in entgegenkommenster Weise Reinkulturen der Bakterien von Vicia villosa, sativa und Faba, Trifolium pratense und incarnatum, Pisum sativum, Medicago sativa und lupulina, Lupinus luteus, Ornithopus sativus und Onobrychis sativa zur Verfügung gestellt. Dieselben wurden einer mikroskopischen Prüfung unterzogen, welche die Uebereinstimmung der Eigenschaften der Bakterien mit den von *Prazmowski* (s. S. 7) beschriebenen Formen ergab. Des weiteren wurden die Bakterien auf frisch bereitete Nährböden (Bohnenaufguss-Gelatine) übergeimpft und nur die für Bacillus Radicicola charakteristischen Kolonien erhalten. Bei drei- bis viermaliger Weiterimpfung wurden stets Kolonieen von gleichem Aussehen erzielt.

Nachdem auf diesem Wege die Reinheit der Kulturen festgestellt worden war, wurde zur Impfung der Nährböden geschritten. Da es sich bei den Vorversuchen herausgestellt

hatte, dass die Kolonieen, welche durch Impfung der Nährböden mit jungen Höchster Kulturen erhalten worden waren, ein langsames Wachstum zeigten, so wurden zur Impfung ältere Kulturen (von 2—3 Monaten) benutzt. Die hieraus auf den nachstehend beschriebenen Nährböden entstandenen Kolonien wuchsen rasch und zeigten die unten näher beschriebenen Eigenschaften.

Die Herstellung der Nährböden geschah nach dem von *Beyerinck* vorgeschlagenen Verfahren: 300 g zerschnittene Blätter und Stengel von Phaseolus vulgaris wurden mit etwa 1 l Wasser mehrere Stunden lang gekocht. Nach dem Erkalten wurde die Flüssigkeit abgepresst, zum Absetzen bei Seite gestellt und filtriert, darauf eine wässerige Lösung von 2,5 g Asparagin, 1 g Citronensäure und 5 g Rohrzucker dem Filtrat zugefügt und dieses auf 1 l aufgefüllt. Dann wurden 100 g Gelatine zu dem Bohnenaufguss in den Kolben gegeben, letzterer mit einem Wattestopfen verschlossen und zur Auflösung der Gelatine eine Stunde im Wasserbade erhitzt. Da die fertige Bohnenaufguss-Gelatine fast klar war, so wurde sie nicht filtriert, sondern noch flüssig in Mengen von je 100 g in Erlenmeyer'sche Kolben von 500 ccm Rauminhalt gewogen und diese mit Wattestopfen verschlossen. Die Kolben wurden dann an drei aufeinander folgenden Tagen je eine Viertelstunde im Dampftopf erhitzt, und nach dem Festwerden der so sterilisierten Gelatine wurde dieselbe mit den oben erwähnten Reinkulturen an 12 bis 15 Stellen durch Stich oder an einigen Stellen durch Strich geimpft. Die der Luft ausgesetzte Oberfläche der Nährböden betrug 110 qcm, die Höhe derselben 1 cm. Die Kulturen wurden an einem dunklen Orte bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Schon nach 24 Stunden konnte man ein Wachstum der Bakterien an den geimpften Stellen bemerken, das rasch vorwärts schritt. Bei nur wenigen von den vielen geimpften Nährböden war während des Impfens eine Infektion durch Schimmelpilze eingetreten. Diese Nährböden wurden selbstverständlich verworfen.

Beschreibung der Kolonieen einzelner Typen von Bacillus Radicicola.

1. Varietät Viciae villosae. Die Farbe der Kolonieen war hellbraun und ihre Gestalt teils kreisrund, teils länglich rund. Ab und zu wurden auch spornartige Aus-

wüchse beobachtet. Die Oberfläche der Kolonieen war höckerig-erhaben, die Gelatine war unter ihnen etwas eingesunken. Allmählich nahm die Oberfläche der Kolonieen wulstige Gestalt an und hatte nach 3—4 Wochen einen Durchmesser von 1—2 ccm erreicht. Nunmehr hörte das Wachstum der Häute an der Oberfläche der Nährböden auf, dagegen wurde die Gelatine unter den hellbraunen, höckerigen Wulsten immer weiter verflüssigt. Um die Zersetzung der Nährböden zu beschleunigen, wurden dieselben nach zwei Monaten einer etwas höheren Temperatur (ca. 25 ° C.) ausgesetzt. Bei dieser Temperatur verflüssigte sich die Gelatine und die hellbraunen Stückchen der Bakterienhäute setzten sich in Gesellschaft einer weisslichen, feinkörnigen Abscheidung allmählich zu Boden. Nach etwa drei Monaten — die Kolben wurden nach der Verflüssigung fast täglich umgeschüttelt — wurde die Gelatine selbst bei einer Temperaturerniedrigung bis zu 15 ° C. nicht mehr fest und dann allmählich immer dünnflüssiger unter vermehrter Bildung des körnigen Bodensatzes. Da nach einer Einwirkung von etwa sieben Monaten eine mikroskopische Untersuchung der Kulturen ergab, dass nur ein kleiner Teil der Bakterien Bewegung zeigte, wurden die Versuche abgebrochen. Einige Kulturen wurden noch weitere $3\frac{1}{2}$ Monate sich selbst überlassen. Nach dieser Zeit waren nur noch sehr wenige Bakterien bewegungsfähig. Die anfangs hellbraune Farbe des Nährbodens war nach siebenmonatlichem Einwirken der Bakterien dunkelbraun geworden.

2. Varietät Trifolii incarnati. Die Kolonieen zeigten eine hellbraune Farbe und fluorescierten stark in dünner Schicht. Nach fünf Tagen hörte die Fluorescenz der durch Stich erhaltenen Kolonieen auf, während die Strichkolonieen diese Erscheinung bis zur vollständigen Verflüssigung des Nährbodens zeigten. Die durch Stich entstandenen Kolonieen hatten sich nach etwa fünf Tagen etwas über die Oberfläche erhoben, besonders an den abgerundeten Rändern, während sie nach dem Innern der Gelatine keilförmig weiterwuchsen, dieselbe mässig verflüssigend. Im weiteren Wachstum, welches recht langsam von statten ging, erhoben sich die Kolonieen, vor allem die Ränder, immer mehr über die Oberfläche. Nach acht Tagen entstand innerhalb des erhabenen Randes ein kleiner braungelber wulstiger Ring, welcher regelmässig in die Höhe wuchs, so dass die einzelnen Kolonieen, deren Höhe und Breite ziemlich gleich war, etwa

0,5 cm über der Oberfläche der Gelatine standen und in dieser Form ein äusserst charakteristisches Bild boten. Da sich der keilförmige Auswuchs inzwischen auch erheblich vergrössert und der Nährboden etwas verflüssigt hatte, so nahm die Kolonie nach vier Wochen etwas an Höhe auf Kosten des weissgelben Randes ab und an Breite zu. Allmählich versank der weissgelbe Rand in der dickflüssigen Gelatine und der braungelbe Ring, welcher eine dunklere Färbung angenommen hatte, war nur noch von oben sichtbar. Nach ungefähr sieben Wochen wurden die Kulturen zur Beschleunigung des Wachstums einer höheren Temperatur (ca. 25 ^{0} C.) ausgesetzt. Da hierbei eine Verflüssigung der Gelatine eintrat, so sanken die Kolonieen immer mehr in den Nährböden ein. Nach etwa acht Wochen wurde die Gelatine umgeschüttelt und die jetzt wie kleine Hutpilze mit dickem Stiel aussehenden Kolonieen sanken allmählich auf den Boden, blieben aber trotz heftigen Schüttelns noch nach zwei Wochen unversehrt erhalten. Dann gingen sie nach und nach in kleinen Stückchen auseinander. Am Boden sammelte sich ausserdem eine geringe weisse körnige Abscheidung. Nach etwa 12 Wochen wurde die Gelatine, längere Zeit bei 15 ^{0} C. stehen gelassen, nicht wieder fest.

3. Varietät Pisi sativi. Die Kolonieen waren von weisslicher Farbe und hatten einen etwas erhabenen Rand. Sie waren der Impfung entsprechend bald rund, bald länglich gestaltet. Nach etwa 24 Stunden hatten sie am Rande erhabene Wulste und fluorescierten schwach in dünner Schicht. Jene erhoben sich bald etwas stärker, die Kolonieen nahmen eine weisse glänzende Farbe an, nur die Fluorescenz blieb schwach. Nach fünf Tagen hatte die Farbe der Kolonieen einen Stich ins Gelbliche und es begann die Verflüssigung des Nährbodens, welcher dabei eine dunkle Farbe annahm. Auch hier wurde wie bei Trifolium die Bildung der eigentümlichen Zapfen beobachtet. Einige Kolonieen hatten sich nach einer Woche schon vollständig verflüssigt und zeigten nicht mehr die eigenartige Form mit dem wulstigen Rande wie die andern. Das Wachstum der anderen Kolonieen samt den Zapfen nahm noch zu, aber von Tag zu Tag verflüssigten sich immer mehr Kolonieen, so dass nach 14 Tagen nur einige noch nicht verflüssigte vorhanden waren. Nach vier Wochen war die Hälfte des Nährbodens, teilweise noch mehr verflüssigt. Nachdem durch höhere Temperatur die vollständige Verflüssigung der Gelatine erreicht war,

blieben nach einigen weiteren Tagen die meisten Kulturen bei 15° C. vollständig flüssig. Auch hier bildet sich ein weisser körniger Bodensatz; weitere Veränderungen traten nicht ein.

Die im Vorstehendem beschriebenen Kulturen von Bacillus Radicicola var. Viciae villosae, var. Trifolii incarnati und var. Pisi sativi dienten nach Unterbrechung der Versuche dazu, die chemischen Veränderungen der einzelnen Bestandteile des ursprünglichen Nährbodens festzustellen.

Um jedoch die wichtige Frage zu beantworten: Fixieren die Leguminosenbakterien auf künstlichen Nährböden den elementaren Stickstoff? schien es für die Beantwortung dieser Frage vorteilhaft, flüssige Nährböden anzuwenden. Zu diesem Zwecke wurden 1500 g Phaseolus-Kraut im Dampftopf mit etwa 3 l Wasser eine Stunde lang gekocht, die erkaltete Masse abgepresst und die gewonnene Flüssigkeit nach längerem Absetzen filtriert. Dann wurde die Abkochung mit 3 g Citronensäure, 15 g Rohrzucker und 7,5 g Asparagin versetzt und die Flüssigkeit auf $1^1/_2$ l eingekocht. Da sich beim Kochen ein körniger Bodensatz gebildet hatte, so wurde derselbe durch Filtrieren entfernt und das klare Filtrat auf $1^1/_2$ l aufgefüllt. Von dieser Flüssigkeit wurden in eine Anzahl langhalsiger Kolben je 50 ccm einpipettiert, etwa 200 ccm destilliertes Wasser hinzugefügt und die Kolben mit Wattestopfen verschlossen. Die Flüssigkeit wurde nunmehr auf 100 ccm eingekocht und die Kolben noch an zwei darauf folgenden Tagen eine Viertelstunde im Wasserbade vollständig sterilisiert. Nach dem Erkalten wurde eine Reihe mit Bac. Rad. var. Trifolii incarnati, eine andere mit var. Pisi sativi geimpft. Am Tage darauf hatte sich die Flüssigkeit bei beiden Reihen etwas getrübt; die Trübung nahm immer mehr zu, es bildete sich eine grünlich schimmernde Haut auf der Oberfläche, welche sich sogar an der Wandung des Gefässes hinaufzog, und auf dem Boden der wagerecht gelegten Gefässe, welche bei Zimmertemperatur im Dunkeln aufbewahrt wurden, ein weisser flockiger Bodensatz. Als nach einer Woche die Gefässe umgeschüttelt worden waren, bildete sich Tags darauf wieder eine grünliche Haut. Auf dem Boden der Gefässe vermehrte sich die Abscheidung mit dem Alter der Kultur.

Es erschien von Interesse, neben der Einwirkung der Leguminosenbakterien auf künstliche Nährböden auch die Wirkungen von anderen Bodenbakterien in dieser Hinsicht

zu prüfen. Es standen mir Reinkulturen von drei Bodenbakterien zur Verfügung, welche im Laboratorium der Versuchsstation zu Marburg schon zu verschiedenen Arbeiten Veranlassung gegeben hatten. Die Bakterien waren von Herrn Rittergutsbesitzer *A. Caron* in Ellenbach aus Wiesenboden und Kompost rein gezüchtet worden. Herr *Caron* hat mit ihnen Kulturversuche im Grossen angestellt und auf Grund deren Ergebnisse diesen Bakterien die Fähigkeit zugesprochen, den Stickstoff der Luft zu binden (Landw. Versuchsstat. Bd. 45, 401 ff.).

Zu meinen Versuchen benutzte ich drei Bakterienarten, welche Herr *Caron* mit Nr. 8, Nr. 12 und Nr. 39 bezeichnet und a. a. O. näher beschrieben hat.

Bacterium Nr. 8, „wahrscheinlich Subtilis-Art", hat Herr *Caron* aus Wiesenboden rein gezüchtet. Die Bakterien sind 2—4 μ lange und 1—2 μ dicke Stäbchen, welche wenig beweglich sind, selten einzeln, meist in kürzeren oder längeren Verbänden auftreten und Sporen bilden. Auf Gelatineplatten wachsen sie in runden, die Gelatine verflüssigenden Kolonieen, welche von einem Strahlenstrang umgeben sind. In Gelatineröhrchen verflüssigen sie die Gelatine fast bis zum Boden, auf welchem sich ein weisser mehlartiger Niederschlag abscheidet. Die Oberfläche ist von einer weissen Haut bedeckt, welche an den Rändern des Glases etwas hinaufsteigt. Auf Kartoffeln bilden die Kulturen einen weissen Belag mit matter Oberfläche, ohne sie immer vollständig zu überziehen.

Bacterium Nr. 12, „wahrscheinlich Proteus-Art", ist aus Kompost rein gezüchtet worden. Es sind 1—$1^1/_2$ μ lange und $^3/_4$—1 μ dicke Stäbchen, welche ziemlich stark beweglich, meist einzeln oder zu zweien sind und Sporen bilden. Auf Gelatineplatten bilden sie runde, die Gelatine verflüssigende Kolonieen, welche bei schwacher Vergrösserung halbinselförmige Ausbuchtungen zeigen. In Gelatineröhrchen verflüssigen sie etwa drei Viertel der Gelatine, auf dem Boden scheiden sie einen starken, ziemlich wolkigen Niederschlag ab. Die darüber stehende Flüssigkeit erscheint leicht getrübt. Auf Kartoffelscheiben bilden sie über die ganze Oberfläche einen schmutzigweissen bis gelblichbraunen Belag, welcher beim Eintrocknen ein feines Netzwerk auf der Oberfläche bildet.

Bacterium Nr. 39, „wahrscheinlich Wurzelbacillus-Art", wurde aus Wiesenboden rein gezüchtet. Die Bakterien sind 2—4 μ lange und $1^1/_2$—$2^1/_2$ μ dicke Stäbchen, welche unbeweglich sind, stets in längeren Verbänden auftreten und

Sporen bilden. Auf Gelatineplatten wachsen sie in weissen, die Gelatine verflüssigenden Kolonieen von unregelmässiger Begrenzung, welche sich bei schwacher Vergrösserung als ein Gewinde langer Fäden darstellen. In Gelatineröhrchen bilden sie eine anfangs vom Impfstrich in einzelnen Fadengruppen in die Gelatine eindringende Vegetation, welche von oben nach unten fortschreitet und die Gelatine langsam verflüssigt. Zuletzt scheiden sie einen ziemlich starken Niederschlag auf dem Boden des Reagensglases ab, die darüber stehende Flüssigkeit bleibt aber klar. Auf Kartoffeln bilden sie ähnlich wie Nr. 8 einen weissen Belag, welcher am Rande einzelne Fäden erkennen lässt.

Als Nährboden für diese Bakterien wurde von mir die bekannte schwach alkalische Fleischwassergelatine mit Pepton- und Kochsalzzusatz benutzt. Je 100 g derselben wurden in Erlenmeyer'sche Kolben von 500 ccm Rauminhalt gewogen und diese mit Wattestopfen verschlossen. Nach dreimaligem viertelstündigem Erhitzen im Wasserbade wurde der wieder erkaltete, nunmehr sterilisierte Nährboden mit den durch die mikroskopische Prüfung und durch Untersuchung der Wachstumseigentümlichkeiten als rein erkannten Kulturen der oben genannten Bakterien durch Punktierung geimpft und die Kulturen in einem dunklen Raume bei Zimmertemperatur aufgestellt.

Bei Bacterium Nr. 8 war nach zwei Tagen nur eine geringe Verflüssigung der Gelatine an den geimpften Stellen bemerkbar. An den nächsten Tagen konnte man einen keilförmigen, höckerig zerstückelten weisslichen Zapfen bemerken, welcher nach unten in die Gelatine hineinwuchs. An der Impfstelle hatten sich die Kolonieen vergrössert, die Mitte derselben war eingefallen, der Rand war weisslich wie der Ansatz. Nach fünf Tagen war das Wachstum noch nicht sehr vorgeschritten. Allmählich nahmen die Kolonieen an Grösse zu, ebenso auch die Verflüssigung der Gelatine, in 25 Tagen war der gesamte Nährboden flüssig geworden. Auf dem Boden schieden sich Häute ab, so dass die darüber stehende Flüssigkeit klar wurde. Nach fünfmonatlichem Stehen hatten sich am Boden einige nadelförmige Krystalle ausgeschieden, welche aber bei längerem Stehen an Zahl und Grösse nicht zunahmen.

Bei Bacterium Nr. 12 war an den beiden der Impfung folgenden Tagen noch wenig zu sehen; am dritten Tage jedoch war die Aussaat an den geimpften Stellen merklich

aufgegangen, sowohl an der Oberfläche als auch in die Gelatine hinein. Der Ansatz war bis zur Spitze gleichmässig breit und höckerig; die Kolonieen waren gleichmässig gewachsen und meist rund. Nach fünf Tagen war der charakteristische Bau der Kolonieen beendet. In der Mitte befand sich ein weisser Kern, welcher in einer breiten höckerigen glasigen Schicht eingebettet lag und teilweise in dieselbe verlief. Diese war kreisförmig von einer schmalen weissen Hautschicht umgeben, an dieselbe schloss sich eine etwas breitere glasige, hieran wieder eine schmale weisse Hautschicht, welche von einem Ring von glasiger Beschaffenheit eingeschlossen war. Den Schluss machte eine kreisförmige schmale weisse Hautschicht. Die ganze Kolonie trug schon sehr den Charakter der Verflüssigung an sich. Nach zwei weiteren Tagen war die Struktur der Kolonie nicht mehr erkennbar; nach 14 Tagen war die Gelatine bis auf einen kleinen Rest verflüssigt. Auf dem Boden lagerten sich die Häute der Kolonieen, die darüber befindliche Flüssigkeit war schwach trüb. Nach fünfmonatlichem Stehen hatten sich ähnliche nadelförmige Krystalle wie bei Bacterium Nr. 8 gebildet.

Bei Bacterium Nr. 39 war schon am Tage nach der Impfung eine starke Verflüssigung der geimpften Stelle bemerkbar, am zweiten Tage hatte diese zugenommen und man konnte am Rande derselben mehrere weisse gefiederte Fädchen sehen. Am folgenden Tage erschien die Mitte der Kolonie weisslich, der Rand war etwas heller und das Wachstum sehr bedeutend. Aus der weissen Stelle der Mitte entsprangen sehr viele krause, gefiederte Fäden. Die Zahl und Länge der Fäden nahm immer mehr zu, so dass die Kolonieen nicht scharf abgegrenzt waren. Die Fäden wuchsen in einander und bildeten ein dichtes Flechtwerk. Nach fünf Tagen hatte das Wachstum seinen Höhepunkt erreicht, und es begannen nun die Kolonieen sich stärker zu verflüssigen. Nach achttägigem Wachstum war die Oberfläche vollständig verflüssigt und von einem Netzwerk der oben erwähnten Fäden bedeckt. Nach und nach verflüssigte sich die ganze Gelatine und die Häute der Kolonieen sanken zu Boden, während sich die flüssige Gelatine darüber klärte. Auch bei diesem Bacterium bildeten sich nach fünfmonatlichem Stehen jene nadelförmigen Krystalle. Weitere Veränderungen traten bei den Kulturen der drei Bakterien nicht mehr auf, nur schienen sich die Bakterienhäute zu vermehren.

Gang der chemischen Untersuchung der Nährböden.

Vor Beginn der chemischen Untersuchung der Nährböden wurde jede Kultur daraufhin untersucht, ob die Bakterien noch lebten und in Reinkultur vorhanden waren.

War die Reinheit der Kulturen durch die mikroskopische Untersuchung erwiesen, dann wurden die Nährböden, geimpfte wie ungeimpfte, durch Erwärmen verflüssigt, mit destilliertem Wasser verdünnt und zu einem halben Liter aufgefüllt. Da die mit Wasser verdünnten Nährböden nur schwer filtrierten, wurde von einer Filtration abgesehen und die unlöslichen Teile durch kräftiges Schütteln in der Flüssigkeit fein verteilt. Vor der Ausführung der einzelnen Bestimmungen wurde demgemäss der verdünnte Nährboden jedesmal kräftig umgeschüttelt. Nur bei den *Caron*'schen Bakterienkulturen wurden die in Wasser unlöslichen Krystalle, welche sich durch die Lebensthätigkeit der Bakterien gebildet hatten, gesondert untersucht.

Zunächst wurde die Reaktion der Nährböden bestimmt und, da alle Kulturen alkalisch reagierten, eine quantitative Bestimmung der Alkalinität mit Hilfe von $^1/_{10}$-Normal-Salzsäure unter Anwendung von Lakmuspapier als Indikator ausgeführt.

Zur Bestimmung der Trockensubstanz wurde eine abgemessene Menge des Nährbodens in einer Platinschale mit Seesand eingedampft und der Rückstand im Glycerinwasser-Trockenschrank 16 Stunden lang bei 100° C. getrocknet. Bei längerem (mehrtägigem) Trocknen trat eine weitere continuierliche Gewichtsverminderung ein, welche, wahrscheinlich durch fortwährende Zersetzungsvorgänge hervorgerufen, einen Verlust an Trockensubstanz im Gefolge hatte. Da die Zusammensetzung der Nährböden eine gewisse Aehnlichkeit mit derjenigen des Fleischextraktes hat, so wurde die bei der Untersuchung des Fleischextraktes übliche Zeitdauer von 16 Stunden innegehalten.

Der erhaltene Trockenrückstand wurde dann zur Bestimmung des Rohfetts in eine Hülse von Filtrierpapier gebracht, etwas nachgetrocknet und das Fett in einem Soxhlet'schen Apparat mit wasserfreiem Aether sechs Stunden extrahiert. Das erhaltene Fett wurde zur Prüfung auf phosphorhaltige organische Substanz unter Zusatz von Baryt verascht und nach der Molybdänmethode auf Phosphorsäure geprüft.

Zur Bestimmung der Kohlehydrate wurde der flüssige Nährboden zunächst bis zur Konsistenz eines dünnen Extraktes eingedampft, und dann durch Zusatz von Alkohol eine Trennung der in demselben unlöslichen Stoffe vom Zucker bewirkt. Die ersteren wurden nach dem Auswaschen mit Alkohol nochmals in Wasser gelöst, wiederum mit Alkohol ausgefällt und darauf durch dreistündiges Erhitzen mit Salzsäure invertiert. Die erhaltene Lösung wurde auf Traubenzucker geprüft. Die gesammelten alkoholischen Filtrate wurden nach Verjagung des Alkohols mit Wasser aufgenommen, und die Lösungen zur Bestimmung von Invert- und Rohrzucker nach den bekannten Methoden verwandt.

Zur Entscheidung der Frage, ob die vorerwähnten Bakterien eine Alkoholbildung veranlassten, wurde die alkalische Lösung des Nährbodens destilliert und das Destillat, welches durch mehrmalige Rektifikation angereichert wurde, zur Prüfung auf Alkohol mittels der Jodoformprobe benutzt.

Von der grössten Wichtigkeit erschien mir die Bestimmung der einzelnen stickstoffhaltigen Substanzen. In Betracht kamen die in den Abkochungen des Bohnenkrauts verbliebenen Stickstoffverbindungen, ferner die den Nährböden zugesetzten Substanzen (wie Asparagin und Leim), sowie die durch die Thätigkeit der Bakterien aus denselben hervorgegangenen Umwandlungsprodukte. Die Untersuchung musste sich demnach erstrecken auf Leim, Albumin, Albumose, Peptone, organische Basen, Amide, Ammoniak, Salpetrige Säure und Salpetersäure.

Der Leim wurde mit 60—64volumprozentigem Alkohol gefällt (Zeitschr. anal. Chem. Bd. 34, 552). Zu diesem Zwecke wurde die Nährbodenflüssigkeit etwas verdünnt und mit soviel Alkohol versetzt, dass ein 60—64volumprozentiger Alkohol resultierte. Im Niederschlage wurde der Stickstoff nach *Kjeldahl* bestimmt und, da Albumin von Alkohol in der angegebenen Stärke ebenfalls niedergeschlagen wird, der demselben entsprechende Stickstoff in Abzug gebracht.

Zur Bestimmung des Albumins wurde der verdünnte Nährboden nach dem Ansäuern mit Essigsäure einmal aufgekocht und im erhaltenen Niederschlag nach dem Auswaschen der Stickstoff nach *Kjeldahl* bestimmt. Da, wie oben erwähnt, eine Filtration der verdünnten Nährböden unthunlich war, so erschien es zur Ermittelung des reinen Albuminstickstoffs notwendig, auch die suspendierten Stoffe, welche zugleich mit dem Albumin niedergeschlagen wurden,

in der unten angegebenen Weise auf ihren Stickstoffgehalt zu untersuchen, um ihn event. in Abzug zu bringen. Der letztere erwies sich jedoch als dermassen gering, dass er vernachlässigt werden konnte.

Aus dem Filtrat des Albuminniederschlags wurden durch Aussalzen mit Zinksulfat (Zeitschr. anal. Chem. Bd. 34, 562) Albumose und Leim gefällt. Da, wie angestellte Versuche zeigten, es gleichgiltig ist, ob die Flüssigkeit mit Essigsäure oder Schwefelsäure angesäuert ist, geschah das Aussalzen in essigsaurer Lösung. Infolgedessen brauchte das vorhandene Ammoniak, welches in schwefelsaurer Lösung mit Zinksulfat ein in der concentrierten Lösung schwer lösliches Doppelsalz bildet, nicht bei der Berechnung des Albumose-Stickstoffs in Abzug gebracht zu werden. Nachdem die Flüssigkeit sich geklärt hatte, wurde in dem Niederschlag der Stickstoff nach *Kjeldahl* bestimmt und der Leimstickstoff davon abgezogen.

Das Filtrat der Zinksulfatfällung wurde danach auf Peptone qualitativ geprüft (Zeitschr. anal. Chem. Bd. 34, 556). Zunächst wurde das Zink mit Soda ausgefällt, das Filtrat auf ein kleines Volumen eingedampft und mit Natronlauge und einigen Tropfen zweiprozentiger Kupfersulfatlösung versetzt. Bei Gegenwart von Peptonen tritt bekanntlich die sog. Biuret-Reaktion, d. h. eine Rosa- bis Violetfärbung ein. Da bei sämtlichen Kulturen der Leguminosenbakterien eine starke Biuret-Reaktion erhalten wurde, erschien es angebracht, eine quantitative Bestimmung des Peptons auszuführen.

Zu diesem Behufe wurden die verdünnten Nährböden mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Phosphorwolframsäurelösung versetzt. Nach siebentägigem Stehen wurde der reichlich entstandene Niederschlag abfiltriert und in demselben der Stickstoff nach *Kjeldahl* bestimmt. Nach den Untersuchungen von *Koenig* und *Boemer* (Zeitschr. anal. Chem. Bd. 34, 556 ff.) werden durch Phosphorwolframsäure die folgenden Stickstoffverbindungen gefällt: Ammoniak, Leim, Albumin, Albumose, Fleischbasen, Xanthinbasen und Peptone. Nach Abzug des nach den vorstehend erwähnten Methoden ermittelten Stickstoffs der ersten vier Verbindungen bleibt derjenige der Fleisch- und Xanthinbasen und der Peptone übrig. Es ist wahrscheinlich, dass die Peptone die Hauptmenge dieser Substanzen ausmachen, da die Intensität der Biuret-Reaktion mit der Menge des erhaltenen Pepton-Fleischbasen-Stickstoffrestes Hand in Hand ging.

Nicht fällbar durch Phosphorwolframsäure sind die Amide organischer Säuren (Zeitschr. anal. Chem. Bd. 34, 559). Zur Bestimmung derselben wurde das Filtrat der Phosphorwolframsäurefällung mit Salzsäure längere Zeit gekocht und die entstandenen Ammoniaksalze durch Destillation mit gebrannter Magnesia zerlegt.

Ammoniak wurde in dem verdünnten Nährboden durch Erhitzen mit gebrannter Magnesia und Titration des in Schwefelsäure von bekanntem Gehalt aufgefangenen Destillats mit Barytlauge bestimmt.

Die Bestimmung der Salpetrigen Säure und der Salpetersäure wurde zunächst qualitativ und bei genügend starker Reaktion auch quantitativ ausgeführt. Salpetrige Säure wurde durch Jodzinkstärke nachgewiesen. Zur quantitativen Bestimmung wurde der verdünnte Nährboden nach starkem Ansäuern mit Phosphorsäure der Destillation im Kohlensäurestrom unterworfen und im Destillat die Salpetrige Säure unter Anwendung von gepulvertem Eisen, Zink und Natronlauge quantitativ in Ammoniak übergeführt und letzteres bestimmt (*Böttcher*, Landw. Versuchsstationen, Bd. 41, 165 ff.).

Salpetersäure wurde qualitativ durch Diphenylamin-Schwefelsäure nachgewiesen. Für die quantitative Bestimmung der Salpetersäure wurde, da die bekannte *Schlösing*'sche Methode nach Versuchen von *Th. Pfeiffer* und *Thurmann* (Landw. Versuchsstationen, Bd. 46, 1 ff.) zu hohe Resultate ergibt, die *Böttcher*'sche Methode angewandt. Auch bei dieser Methode ist zu berücksichtigen, dass leicht zu hohe Zahlen erhalten werden können infolge der Zersetzung stickstoffhaltiger organischer Substanzen durch Natronlauge. Es wurden daher Versuche angestellt, um die Grösse der event. Fehler zu ermitteln.

Zu diesem Zwecke wurde in einigen Nährböden durch Destillation mit gebrannter Magnesia der Ammoniakstickstoff ermittelt. Desgleichen wurde mit anderen Nährböden derselben Zusammensetzung eine Destillation mit Natronlauge in der Concentration, wie sie *Böttcher* für die Salpetersäurebestimmung vorschreibt, vorgenommen. Da nach dieser Methode bei allen Nährböden nur eine sehr geringe Menge Stickstoff mehr erhalten wurde im Vergleich zu der Menge, welche die Destillation mit gebrannter Magnesia ergeben hatte, so dürfte der Anwendung der *Böttcher*'schen Methode nichts im Wege stehen. Die nach derselben gefundene Menge

Stickstoff entsprach nach Abzug des Ammoniakstickstoffs der in den Kulturen vorhandenen Menge Salpetersäure.

Um festzustellen, ob durch vorstehende Methoden der Stickstoff sämtlicher Verbindungsformen bestimmt worden war, oder ob vielleicht noch Stickstoffverbindungen unbekannter Art sich der Untersuchung entzogen hatten, wurden in sämtlichen Nährböden Bestimmungen des Gesamtstickstoffs nach dem von *Wilfarth* modificierten *Kjeldahl*schen Verfahren bezw. nach *Jodlbauer* ausgeführt. Das letztere Verfahren, welches bekanntlich gestattet, auch den in Form von Salpetersäure vorhandenen Stickstoff mitzubestimmen, war bei den Nährböden 1—6 nicht angewandt worden, da bekanntermassen kleine Mengen Salpetersäure bei den gewöhnlichen *Kjeldahl*'schen Stickstoffbestimmungen in Ammoniak übergeführt werden.

Um die wichtige Frage zu beantworten, ob durch die Leguminosenbakterien auf künstlichem Nährboden der freie Stickstoff der Luft fixiert wird, wurden besondere Versuche mit flüssigen Nährböden angestellt und in diesen der Gesamtstickstoff nach *Kjeldahl* und bei Anwesenheit von Salpetriger Säure oder Salpetersäure nach *Jodlbauer* bestimmt.

Es erschien gleichfalls von Interesse, auch die Menge der bei dem Lebensprozess der Bakterien gebildeten Kohlensäure zu bestimmen, um teils einen Massstab für die Intensität des Prozesses zu haben, teils das Verhältnis der erhaltenen Kohlensäure zu der Trockensubstanz zu ermitteln. Zu diesem Behufe wurden zwei Erlenmeyer'sche Kolben von 500 ccm Rauminhalt mit dem oben angegebenen Nährboden (aus Bohnenkrautaufguss mit Gelatine, etwas Zucker und Asparagin) beschickt und in folgender Weise mit den Luftzuleitungs- und Absorptions-Apparaten verbunden. Ein Gasometer wurde durch eine Schwefelsäure- und Natronlauge-Waschflasche mit einem Erlenmeyer'schen Kolben, welcher in beiden Verbindungsschläuchen Wattestopfen trug, luftdicht in Verbindung gebracht, dieser aber, in welchem sich Sublimatlösung befand, mit dem Nährbodenkolben. An denselben schloss sich eine Vorlage mit Schwefelsäure von bekanntem Gehalt an zum Auffangen des etwa gebildeten flüchtigen Ammoniaks. Hieran schloss sich ein kleiner Erlenmeyer-Kolben, auf dessen Boden Chlorcalcium sich befand, dann ein Chlorcalcium-Rohr und zwei U-Röhrchen, von denen das erste mit Natronkalk, das zweite zum Teil mit Natronkalk und Chlorcalcium gefüllt war. Das Gewicht der beiden

letzteren war vorher festgestellt worden. Zum Schluss folgte noch ein Chlorcalcium-Rohr und eine Röhre mit Aetznatron. Der ganze Apparat schloss luftdicht, und es konnte weder von dem einen Ende noch von dem anderen Kohlensäure der Luft und Feuchtigkeit zu den beiden Wägeröhrchen gelangen. Der Kolben mit dem Nährboden wurde samt Stopfen und Knieröhren an drei aufeinander folgenden Tagen je eine Viertelstunde im Wasserbade bei Siedetemperatur erhitzt. Nach dem Erkalten wurde der Nährboden mit Bac. Rad. var. Viciae villosae geimpft und der Kolben dem Apparat eingefügt. Durch den fortwährenden Druck des Wassers im Gasometer wurde ein Zurücksteigen der Luft verhindert und das gebildete Kohlensäuregas nach dem Wägeröhrchen geleitet.

Auch mit Bac. Rad. var. Trifolii incarnati wurde ein Versuch zur Bestimmung der durch das Wachstum und die Thätigkeit der Bakterien im Nährboden entwickelten Kohlensäure angestellt.

Beide Versuche wurden im Dunkeln bei einer Temperatur von 12—15 ^{0} C. ausgeführt.

Experimenteller Teil.

Nach diesem eben angegebenen Verfahren wurden die Nährböden, geimpfte wie ungeimpfte, untersucht, letztere sowohl gleich nach ihrer Herstellung (Gelatine *a*), als auch später gemeinsam mit den durch die Lebensthätigkeit der Bakterien veränderten Nährböden (Gelatine *b*). Es kamen im Ganzen drei zu verschiedenen Zeiten hergestellte Leguminosen-Nährböden zur Untersuchung. Die Leguminosengelatine Nr. I wurde am 14. Okt. 1895 mit Bac. Rad. var. Viciae villosae, Leguminosengelatine Nr. II am 13. August 1896 mit Bac. Rad. var. Trifolii incarnati und Leguminosengelatine Nr. III mit den Varietäten von Trifolii incarnati und Pisi sativi am 25. August 1896 geimpft. Für die *Caron*'schen Bakterien wurden ebenfalls zwei verschiedene Fleischwassergelatinen verwendet. Die Impfung der ersten geschah am 14. Oktober 1895 und die der zweiten am 1. September 1896.

Von den mit Bac. Rad. var. Viciae villosae geimpften Nährböden wurden sechs Anfang Mai 1896, die drei übrigen Anfang August 1896, also nach $6\frac{1}{2}$ und $9\frac{1}{2}$ Monaten untersucht. Alle neun Kulturen waren zur Zeit ihrer Untersuchung dickflüssig, trübe und von dunkelbrauner Farbe, auf dem Boden befanden sich die gelblichen Häutereste der Kolonieen und ein geringer weisser feinkörniger Bodensatz. Neben dem eigentlichen aromatischen Geruche der Bohnenkrautabkochung war ein ammoniakalischer Geruch deutlich wahrnehmbar. Die Bakterien jeder einzelnen Kultur von Bac. Rad. var. Viciae villosae wurden sowohl auf ihre Beweglichkeit im hängenden Tropfen als auch auf ihre Reinheit in mit Fuchsin gefärbten Präparaten untersucht. Sie zeigten sich als grosse und kleine Stäbchen, welche oft auch zu zweien zusammenhingen, genau so, wie sie im ursprünglichen Impfmaterial beobachtet waren. Die Anwesenheit von Bakteroïden wurde nicht beobachtet. Dass die meisten Bakterien abgestorben waren, zeigte sich dadurch, dass bei einer Impfung von frischer Gelatine mit diesen Kulturen nur stellenweise eine sehr geringe Vegetation entstand.

Die Bohnengelatinen Nr. II und III, welche mit Bac. Trifolii incarnati geimpft waren, wurden zu verschiedenen

Zeiten untersucht, da es von Interesse erschien, das Fortschreiten der durch die Lebensthätigkeit der Bakterien verursachten chemischen Umsetzungen des Nährbodens kennen zu lernen. Die vier geimpften Nährböden aus Gelatine Nr. II wurden nach 7 Wochen, 9 Wochen, 13 und 14 Wochen untersucht, die drei Nährböden aus Gelatine Nr. III nach 6, 8 und 9 Wochen. Hinsichtlich ihres Aeussern zeigten diese Kulturen dieselben Eigenschaften wie diejenigen von Viciae villosae. Bei der Untersuchung der Bakterien auf ihre Beweglichkeit und Reinheit wurde ebenso verfahren wie bei der Varietät Viciae villosae. Auch hier wurden grosse und kleine Stäbchen gefunden, welche öfters zu zweien zusammenhingen und starke Bewegungsfähigkeit zeigten. Beim Ueberimpfen auf neue Gelatine ergaben die geimpften Stellen schon nach einem Tage neue Vegetation.

Ganz ähnlich wie die Varietät von Trifolium incarnatum auf Bohnengelatine Nr. III verhielt sich diejenige von Pisum sativum, welche am 25. August 1896 auf dieselbe Gelatine geimpft war. Die Untersuchung derselben wurde nach 6, 7 und $13^1/_2$ Wochen ausgeführt. Zu diesen Zeitpunkten waren die Nährböden dünnflüssig, trübe und von brauner Farbe, am Boden befanden sich weissliche Bakterienhäute und eine weisse feinkörnige Abscheidung. Der Geruch war derselbe wie bei den vorher erwähnten Kulturen. Auch hier fanden sich bei der mikroskopischen Untersuchung in den Nährböden grosse und kleine Stäbchen, genau so, wie im ursprünglichen Impfmaterial. Alle bewegten sich recht kräftig und wuchsen, auf frische Gelatine übergeimpft, schon nach einem Tage deutlich heran.

Die *Caron*'schen Bakterien Nr. 8, 12 und 39 zeigten ein bedeutend kräftigeres Wachstum als die Leguminosenbakterien. Die auf Fleischwassergelatine Nr. I am 14. Okt. 1895 geimpften Bakterienkulturen wurden (mit Ausnahme eines Nährbodens mit Bacterium Nr. 8, welcher am 15. April 1896 in Untersuchung genommen wurde) Anfang September 1896 nach und nach untersucht. Die Kulturen dieser Bakterien auf Fleischwassergelatine Nr. II wurden am 14. Oktober und 14. November 1896 untersucht. Alle Nährböden waren zur Zeit ihrer Analyse dünnflüssig und von hellbrauner Farbe, am Boden befanden sich hautähnliche Absonderungen und bei den älteren Kulturen auf Gelatine Nr. I nadelförmige Krystalle. Der Geruch war stark ammoniakalisch und sehr widerlich, an faulende Pflanzenstoffe erinnernd. Bei der

mikroskopischen Untersuchung wurden nur Stäbchen derselben Art gefunden, wie sie zur Impfung verwandt worden waren. Beim Ueberimpfen auf neue Gelatine waren nach einigen Tagen die Aussaaten an den geimpften Stellen aufgegangen.

Die geimpften Nährböden wurden mit laufenden Nummern versehen. Die nachfolgende Tabelle gibt an, mit welchen Bakterien, die einzelnen Nährböden geimpft waren.

Nährboden Nr.	1—9	(Legum.-Gelatine	I)	mit var.	Viciae villosae.	
„ „	10—13	(„ „	II)	„ „	Trifol. incarn.	
„ „	14—16	(„ „	III)	„ „	Trifol. incarn.	
„ „	17—22	(„ „	III)	„ „	Pisi sativi.	
„ „	23—27	(Fleischw.-Gelat.	I)	„ Bact.	Nr. 8	(Subtilis)
„ „	31—35	(„ „	I)	„ „	„ 12	(Proteus)
„ „	39—43	(„ „	I)	„ „	„ 39	(Wurzelbac.)
„ „	28—30	(„ „	II)	„ „	„ 8	(Subtilis)
„ „	36—38	(„ „	II)	„ „	„ 12	(Proteus)
„ „	44—46	(„ „	II)	„ „	„ 39	(Wurzelbac.)

Zur chemischen Untersuchung wurden alle Nährböden, geimpfte wie ungeimpfte, mit destilliertem Wasser bis zu $^1/_2$ l verdünnt. In dieser gut durchmischten Flüssigkeit wurde zunächst in 25 ccm derselben die Acidität bezw. Alkalinität bestimmt.

Bei den nicht geimpften citronensäurehaltigen Bohnenkrautgelatinen wurden die verdünnten Lösungen mit $^1/_{10}$-Normal-Natronlauge titriert und die verbrauchten ccm Lauge auf Citronensäure (C_3H_4 (OH) . $(CO_2H)_3 + H_2O$) umgerechnet. Die anderen Nährbodenflüssigkeiten, welche alkalische Reaktion besassen, wurden mit $^1/_{10}$-Normal-Salzsäure titriert und die gefundene Menge Salzsäure auf die äquivalente Menge Natriumhydroxyd umgerechnet.

25 ccm der verdünnten Leguminosengelatine Ia brauchten 0,6 ccm $^1/_{10}$-Normal-Natronlauge oder 500 ccm (= 100 g Nährboden) 12 ccm. In diesen 12 ccm sind $12 \times 0{,}004 = 0{,}048$ g NaOH enthalten, welche 0,084 g Citronensäure entsprechen. Bei der Untersuchung am 30. April brauchten 25 ccm dieser verdünnten Leguminosengelatine Nr. Ib wiederum 0,6 ccm $^1/_{10}$-Normal-Natronlauge.

Eine ebensogrosse Menge der verdünnten Leguminosengelatine Nr. IIa brauchte 0,7 ccm $^1/_{10}$-Normal-Natronlauge und bei ihrer zweiten Untersuchung am 21. Oktober 0,75 ccm der Lauge, mithin in 500 ccm (= 100 g Nährboden) 14 und 15 ccm, welche gleich 0,056 und 0,06 g NaOH sind und 0,098 und 0,105 g Citronensäure entsprechen.

25 ccm der verdünnten Leguminosengelatine Nr. IIIa brauchten 0,7 ccm Normal-Natronlauge und bei der Untersuchung am 21. Oktober ebensoviel. Mithin sind in 500 ccm (= 100 g Nährboden) 14 ccm Lauge zur Neutralisation nötig oder 0,056 g NaOH, welche 0,098 g Citronensäure entsprechen.

Von den geimpften Nährböden, welche bereits nach sechs Wochen ihre saure Reaktion verloren hatten und alkalisch geworden waren, wurde zunächst die Alkalinität bestimmt. Zu diesem Zwecke wurde der Nährboden zu $^1/_2$ l verdünnt und 25 ccm dieser Flüssigkeit zur Bestimmung der Alkalinität verwandt. Die erhaltenen Resultate wurden auf Prozente NaOH des ursprünglichen Nährbodens umgerechnet und finden sich in den nachfolgenden Tabellen zusammengestellt.

	Objekt					Datum der Unters.	Resultat
Ungeimpfte Bohnengelatine			Ia			15. Okt. 1895	0,084 g Citronens·
Bac. Rad. var. Viciae villosae	Geimpfte	„	(I)	Nr.	1	4. Mai 1896	0,120 „ NaOH
	„	„	„	„	2	4. „ „	0,136 „ „
	„	„	„	„	3	4. „ „	0,120 „ „
	„	„	„	„	4	4. „ „	0,104 „ „
	„	„	„	„	5	4. „ „	0,120 „ „
	„	„	„	„	6	4. „ „	0,096 „ „
	„	„	„	„	7	3. Aug. „	0,280 „ „
	„	„	„	„	8	3. „ „	0,280 „ „
	„	„	„	„	9	3. „ „	0,280 „ „
Ungeimpfte		„	Ib			30. April „	0,084 „ Citronens.
„		„	IIa			19. Aug. „	0,098 „ „
B.R. var. Trif. inc.	Geimpfte	„	(II)	Nr.	10	7. Okt. „	0,040 „ NaOH
	„	„	„	„	11	21. „ „	0,080 „ „
	„	„	„	„	12	16. Nov. „	0,192 „ „
	„	„	„	„	13	23. „ „	0,056 „ „
Ungeimpfte		„	IIb			21. Okt. „	0,105 „ Citronens.
„		„	IIIa			26. Aug. „	0,098 „ „
B.R.v. Tr.inc.	Geimpfte	„	(III)	Nr.	14	7. Okt. „	0,056 „ NaOH
	„	„	„	„	15	12. Nov. „	0,144 „ „
	„	„	„	„	16	16. „ „	0,192 „ „
B. R. var. Pisi sativi	„	„	„	„	17	7. Okt. „	0,120 „ „
	„	„	„	„	18	7. „ „	0,104 „ „
	„	„	„	„	19	14. „ „	0,104 „ „
	„	„	„	„	20	16. Nov. „	0,208 „ „
	„	„	„	„	21	16. „ „	0,200 „ „
	„	„	„	„	22	16. „ „	0,224 „ „
Ungeimpfte		„	IIIb			21. Okt. „	0,098 „ Citronens

Zur Züchtung der *Caron*'schen Bakterien waren zwei verschiedene Fleischwassergelatinen zur Anwendung gekommen. Von der verdünnten Fleischwassergelatine Ia, welche gleich

nach ihrer Herstellung am 15. Oktober 1895 in Arbeit genommen wurde, brauchten 25 ccm 1,5 ccm $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure, welche in 500 ccm (= 100 g Nährboden) 0,12 g NaOH entsprechen. Die Untersuchung der Fleischwassergelatine Ib ergab, dass sich die Alkalinität während der 6 Monate nicht geändert hatte.

25 ccm der verdünnten Fleischwassergelatine IIa, welche am 1. Sept. 1895 nach ihrer Herstellung untersucht wurde, hatten zur Neutralisation 0,9 ccm nötig, also 500 ccm 18 ccm Säure, welche 0,072 g NaOH entsprechen. Die zweite Untersuchung der Fleischwassergelatine IIb am 2. November 1896 ergab ebenfalls 0,072 g NaOH.

Die folgenden Nährböden sind mit Fleischwassergelatine hergestellt. Die Alkalinitätsprüfung ergab:

Objekt				Datum der Unters.	Resultat
Ungeimpfte Fleischwassergelatine		Ia		15. Okt. 1895	0,120 g NaOH
Bact. Nr. 8	Geimpfte	(I) Nr.	23	15. Apr. 1896	0,216 „ „
	„ „	„ „	24	30. Aug. „	0,232 „ „
	„ „	„ „	25	30. „ „	0,232 „ „
	„ „	„ „	26	30. „ „	0,240 „ „
	„ „	„ „	27	30. „ „	0,240 „ „
Bact. Nr. 12	„ „	„ „	31	3. Sept. „	0,256 „ „
	„ „	„ „	32	3. „ „	0,256 „ „
	„ „	„ „	33	3. „ „	0,264 „ „
	„ „	„ „	34	3. „ „	0,272 „ „
	„ „	„ „	35	3. „ „	0,272 „ „
Bact. Nr. 39	„ „	„ „	39	11. „ „	0,280 „ „
	„ „	„ „	40	11. „ „	0,272 „ „
	„ „	„ „	41	11. „ „	0,272 „ „
	„ „	„ „	42	11. „ „	0,216 „ „
	„ „	„ „	43	11. „ „	0,216 „ „
Ungeimpfte	„	Ib		15. April „	0,120 „ „
	„	IIa		1. Sept. „	0,072 „ „
Bact. Nr. 8	Geimpfte	(II) Nr.	28	14. Okt. „	0,160 „ „
	„ „	„ „	29	14. „ „	0,160 „ „
	„ „	„ „	30	14. Nov. „	0,192 „ „
Bact. Nr. 12	„ „	„ „	36	14. Okt. „	0,216 „ „
	„ „	„ „	37	14. „ „	0,208 „ „
	„ „	„ „	38	14. Nov. „	0,232 „ „
Bact. Nr. 39	„ „	„ „	44	14. Okt. „	0,216 „ „
	„ „	„ „	45	14. „ „	0,216 „ „
	„ „	„ „	46	14. Nov. „	0,232 „ „
Ungeimpfte	„	IIb		2. „ „	0,072 „ „

Die Trockensubstanz wurde nach dem auf S. 19 angegebenen Verfahren in 50 ccm des verdünnten Nährbodens bestimmt. Die einzelnen Bestimmungen ergaben:

Objekt				Alter der Kultur	Trockensubstanz
Ungeimpfte Bohnengelatine		Ia		—	12,51 %
Bac. Rad. var. Viciae villosae	Geimpfte	(I) Nr.	1	26 Wochen	10,96 „
	„	„ „	2	26 „	10,74 „
	„	„ „	3	26 „	10,94 „
	„	„ „	4	26 „	11,02 „
	„	„ „	5	26 „	11,16 „
	„	„ „	6	26 „	11,25 „
	„	„ „	7	41 „	10,83 „
	„	„ „	8	41 „	11,22 „
	„	„ „	9	41 „	10,74 „
Ungeimpfte	„	Ib		28 „	12,35 „
„	„	IIa		—	11,25 „
B. R. v. Trif. inc.	Geimpfte	(II) Nr.	10	7 Wochen	10,58 „
	„	„ „	11	9 „	10,06 „
	„	„ „	12	13 „	10,07 „
	„	„ „	13	14 „	9,90 „
Ungeimpfte	„	IIb		9 „	11,30 „
„	„	IIIa		—	8,43 „
B. R. v. Tr. inc.	Geimpfte	(III) Nr.	14	6 Wochen	8,02 „
	„	„ „	15	8 „	7,46 „
	„	„ „	16	9 „	7,58 „
Bac. Rad. v. Pisi sativi	„	„ „	17	6 „	7,47 „
	„	„ „	18	6 „	7,51 „
	„	„ „	19	7 „	7,50 „
	„	„ „	20	13½ „	7,24 „
	„	„ „	21	13½ „	7,26 „
	„	„ „	22	13½ „	7,06 „
Ungeimpfte	„	IIIb		9 „	8,31 „

Objekt				Alter der Kultur	Trockensubstanz
Ungeimpfte Fleischwassergelatine		Ia		—	10,01 %
Bact. Nr. 8	Geimpfte	(I) Nr.	23	26 Wochen	9,27 „
	„	„ „	24	47 „	9,13 „
	„	„ „	25	47 „	8,78 „
	„	„ „	26	47 „	8,27 „
	„	„ „	27	47 „	8,55 „
Bact. Nr. 12	„	„ „	31	47 „	8,12 „
	„	„ „	32	47 „	8,44 „
	„	„ „	33	47 „	8,76 „
	„	„ „	34	47 „	8,23 „
	„	„ „	35	47 „	8,78 „
Bact. Nr. 39	„	„ „	39	48 „	9,11 „
	„	„ „	40	48 „	9,01 „
	„	„ „	41	48 „	9,18 „
	„	„ „	42	48 „	8,82 „
	„	„ „	43	48 „	8,72 „
Ungeimpfte	„	Ib		28 „	9,90 „
„	„	IIa		—	9,23 „
Bact. Nr. 8	Geimpfte	(II) Nr.	28	6 Wochen	9,12 „
	„	„ „	29	6 „	9,11 „
	„	„ „	30	10 „	9,18 „

	Objekt				Alter der Kultur		Trockensubstanz
Bact. Nr. 12	Geimpfte	Fleischw.-Gelatine	(II)	Nr. 36	6	Wochen	9,20 %
	„	„	„	„ 37	6	„	9,40 „
	„	„	„	„ 38	10	„	9,11 „
Bact. Nr. 39	„	„	„	„ 44	6	„	9,54 „
	„	„	„	„ 45	6	„	9,30 „
	„	„	„	„ 46	10	„	9,02 „
Ungeimpfte		„	IIb		6	„	9,23 „

Das Rohfett wurde nach dem S. 19 angegebenen Verfahren nur bestimmt in den Kulturen mit Bac. Rad. var. Viciae villosae und in den *Caron*'schen Bakterienkulturen auf Fleischwassergelatine I. Die einzelnen Bestimmungen ergaben folgende Werte:

	Objekt				Alter der Kultur		Rohfett
Ungeimpfte	Leguminosengelatine		Ia		—		0,160 %
Bac. Rad. var. Viciae villosae	Geimpfte	„	I	Nr. 1	26	Wochen	0,175 „
	„	„	„	„ 2	26	„	0,190 „
	„	„	„	„ 3	26	„	0,235 „
	„	„	„	„ 4	26	„	0,220 „
	„	„	„	„ 5	26	„	0,190 „
	„	„	„	„ 6	26	„	0,175 „
	„	„	„	„ 7	41	„	0,190 „
	„	„	„	„ 8	41	„	0,190 „
	„	„	„	„ 9	41	„	0,220 „
Ungeimpfte		„	Ib		28	„	0,180 „
	„	Fleischwassergelatine	Ia		—		0,310 „
Bact. Nr. 8	Geimpfte	„	I	Nr. 23	26	Wochen	0,115 „
	„	„	„	„ 24	47	„	0,170 „
	„	„	„	„ 25	47	„	0,180 „
	„	„	„	„ 26	47	„	0,220 „
	„	„	„	„ 27	47	„	0,185 „
Bact. Nr. 12	„	„	„	„ 31	47	„	0,130 „
	„	„	„	„ 32	47	„	0,150 „
	„	„	„	„ 33	47	„	0,110 „
	„	„	„	„ 34	47	„	0,180 „
	„	„	„	„ 35	47	„	0,140 „
Bact. Nr. 39	„	„	„	„ 39	48	„	0,140 „
	„	„	„	„ 40	48	„	0,120 „
	„	„	„	„ 41	48	„	0,150 „
	„	„	„	„ 42	48	„	0,120 „
	„	„	„	„ 43	48	„	0,135 „
Ungeimpfte		„	Ib		28	„	0,310 „

Die Bestimmung der Phosphorsäure und dadurch indirekt des Lecithins wurde im Rohfett bei einigen Nährböden, welche mit Bac. Rad. var. Viciae villosae geimpft waren, ausgeführt. Da aber sowohl das Rohfett als auch der Phosphorsäuregehalt desselben in den geimpften Nährböden im Vergleich zur ungeimpften Gelatine nur wenig zu-

genommen hatte, so wurde von einer weiteren Bestimmung der Phosphorsäure abgesehen.

Das Rohfett wurde in einer Platinschale mit Baryt verascht und im salpetersäurehaltigen Auszug die Phosphorsäure durch Ammoniummolybdat als phosphormolybdänsaures Ammon gefällt. Dieser Niederschlag wurde in wenig $2\,^1/_2$-prozentigem Ammoniak gelöst und die Phosphorsäure durch eine Lösung von Chlorammonium und Chlormagnesium als Ammonium-Magnesiumphosphat gefällt. Der Niederschlag wurde gesammelt, geglüht und gewogen. Die ermittelte Pyrophosphatmenge wurde durch Multiplikation mit 7,2703 auf Lecithin umgerechnet.

Da nach den Arbeiten von *Schulze* und *Steiger* (Zeitschr. f. physiolog. Chem., Bd. 13, 365; Bd. 15, 405) das Lecithin mit Hilfe von Aether nur teilweise in Lösung gebracht wird, so stellen die angegebenen Zahlen die absolute Menge des vorhandenen Lecithins nicht genau dar.

Die Bestimmungen ergaben:

Objekt			Phosphorsäuse	Lecithin
Ungeimpfte	Bohnengelatine	Ia	0,0160 %	0,0182 %
Geimpfte	„	Nr. 1	0,0128 „	0,0145 „
„	„	„ 2	0,0109 „	0,0124 „
„	„	„ 3	0,0096 „	0,0109 „
„	„	„ 4	0,0064 „	0,0073 „
„	„	„ 6	0,0096 „	0,0109 „

Der Zuckergehalt der sterilen Nährböden wurde vor und nach der Inversion bestimmt. Da hierbei ungefähr die gleiche Menge Kupfer erhalten wurde, so ist der Voraussetzung entsprechend der Rohrzucker durch die Einwirkung der heissen sauren Lösung invertiert worden. Der gebildete Invertzucker scheint von den Leguminosenbakterien schnell verbraucht zu werden, da bei der Untersuchung der Nährböden kein Zucker mehr gefunden wurde. In den Nährböden der Bodenbakterien wurde ebenfalls kein Zucker gefunden.

Die Zuckerbestimmung in den Gelatineauszügen, welche nach dem auf S. 20 angegebenen Verfahren hergestellt waren, wurde in folgender Weise ausgeführt: 100 ccm dieser Flüssigkeit wurden in zwei gleiche Teile geteilt. Der eine Teil wurde mit einigen Tropfen Salzsäure angesäuert und eine halbe Stunde im Wasserbade erhitzt. Nach der Neutralisation wurde die Flüssigkeit auf 50 ccm aufgefüllt, ebenso der andere, nicht invertierte Teil. Je 25 ccm aus beiden Teilen wurden zur Invertzucker-Bestimmung nach *Meissl* verwandt. 50 ccm der *Fehling*'schen Lösung wurden mit 25 ccm

Wasser zum Sieden erhitzt, 25 ccm der Nährbodenflüssigkeit hinzugefügt und das Gesamte 2 Minuten lang im Sieden erhalten. Darauf wurde das ausgeschiedene Kupferoxydul in ein Allihn'sches Röhrchen auf Asbest filtriert, getrocknet und im Wasserstoffstrome in der Hitze das Oxydul zu metallischem Kupfer reduziert. Die Berechnungen des Kupfers auf Invertzucker wurden nach der Tabelle von *E. Wein* ausgeführt.

Die Bestimmungen ergaben:

		Invertzucker vor der Inversion	Invertzucker nach der Inversion
in der ungeimpften Bohnengelatine	Ia	0,3612	0,3600
„ „ „ „	Ib	0,3588	0,3577
„ „ „ „	IIa	0,3612	0,3600
„ „ „ „	IIb	0,3616	0,3612
„ „ „ „	IIIa	0,3696	0,3676
„ „ „ „	IIIb	0,3676	0,3666

Die Prüfung auf dextrinartige Stoffe fiel negativ aus.

Alkohol. Zur Entscheidung der Frage, ob durch die Lebensthätigkeit der Bakterien eine Alkoholbildung eingetreten sei, wurden sowohl die Kulturen des Bac. Rad. var. Viciae villosae, als auch die der *Caron*'schen Bakterien qualitativ auf Alkohol geprüft. Nach der S. 20 angegebenen Methode wurde in keiner Kultur eine Jodoformreaktion erzielt, wenn das durch wiederholte Destillationen angereicherte Destillat des verdünnten Nährbodens alkalisch gemacht und mit einigen Tropfen einer Jodjodkaliumlösung versetzt wurde.

Bestimmung des Stickstoffs.

Zur Bestimmung des Stickstoffs im Leim, im Albumin, in der Albumose, in der Phosphorwolframsäurefällung sowie zu der des Gesamtstickstoffs wurde die von *Wilfarth* modifizierte *Kjeldahl*'sche Methode und zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs in den Nährböden Nr. 7 – 9 die *Jodlbauer*'sche Methode benutzt. Die erstere wurde in der Weise ausgeführt, dass die stickstoffhaltige Substanz mit 20 ccm Phosphorschwefelsäure (200 g Phosphorsäure-Anhydrid auf 1 l concentrierte Schwefelsäure) und einem Tropfen Quecksilber bis zur vollständigen Zerstörung der organischen Substanz gekocht wurde.[1]) Nach *Jodlbauer* wurde die stickstoffhaltige

[1]) Nach den Versuchen der hiesigen Versuchsstation genügt ein dreistündiges Kochen.

Substanz mit 25 ccm Phenolschwefelsäure (40 g krystallisierte Karbolsäure auf 1 l Schwefelsäure) versetzt, 5 Minuten stehen gelassen, dann 1 g Zinkstaub in kleinen Portionen, 1 Tropfen Quecksilber und 20 ccm Phosphorschwefelsäure der Reihe nach zugefügt und nach dem Farbloswerden der Flüssigkeit noch 2 Stunden lang erhitzt.

Die nach dem Kochen zurückbleibenden Flüssigkeiten wurden mit Wasser verdünnt, mit etwas Zinkpulver versetzt, welches die Quecksilberammon-Verbindungen zersetzt und das Stossen der Flüssigkeit beim Destillieren verhindert, und mit Natronlauge im Ueberschuss gekocht, um das bei der Verbrennung als schwefelsaures Salz resultierende Ammoniak abzudestillieren. Das Destillat wurde in Schwefelsäure von bekanntem Gehalt aufgefangen und die überschüssige Säure mit Barytlauge unter Anwendung von Lakmoid als Indikator zurücktitriert. Aus der verbrauchten Menge Lauge wurde der Stickstoffgehalt berechnet. Es wurden im Laufe der Untersuchungen fünf verschiedene Schwefelsäuren bezw. Barytlaugen angewendet:

1.	10 ccm	Säure	entspr.	17,6 ccm	Lauge;	1 ccm	Lauge	entspr.	0,00310 g	N
2.	10 „	„	„	16,25 „	„	1 „	„	„	0,00338 g	N
3.	10 „	„	„	29,0 „	„	1 „	„	„	0,00341 g	N
4.	10 „	„	„	29,3 „	„	1 „	„	„	0,00338 g	N
5.	10 „	„	„	16,3 „	„	1 „	„	„	0,00335 g	N

es brauchten danach 1. 10 ccm Säure zur Neutralisation 17,6 ccm Barytlauge; 1 ccm Barytlauge war gleichartig mit 0,0031 g Stickstoff u. s. f.

Leim. Zur Bestimmung des Leims wurden 50 ccm der verdünnten Gelatine mit ebensoviel Wasser versetzt und unter Umrühren 155 ccm Alkohol hinzugefügt. Nachdem sich die Flüssigkeit während zweier Tage geklärt hatte, wurde der Niederschlag abfiltriert und mit 60—64-volumprozentigem Alkohol (200 ccm Wasser und 310 ccm Alkohol) ausgewaschen. Im Niederschlag, welcher neben dem Leim auch das Albumin enthielt, wurde dann der Stickstoff bestimmt und von der erhaltenen Zahl die dem Albumin entsprechende Menge abgezogen.

Die Bestimmungen ergaben:

	Objekt				Alter der Kultur		Leimstickstoff
Ungeimpfte	Bohnengelatine	Ia			—		1,4004 %
Bac. Rad. var. Viciae villosae	Geimpfte	„	(I)	Nr. 1	26	Wochen	0,4124 „
	„	„	„	„ 2	26	„	0,2636 „
	„	„	„	„ 3	26	„	0,5053 „
	„	„	„	„ 4	26	„	0,4570 „
	„	„	„	„ 5	26	„	0,4225 „
	„	„	„	„ 6	26	„	0,2670 „
	„	„	„	„ 7	41	„	0,2182 „
	„	„	„	„ 8	41	„	0,2771 „
	„	„	„	„ 9	41	„	0,2472 „
Ungeimpfte		„	Ib		28	„	1,4027 „
	„	„	IIa		—		1,0742 „
B. R. var. Trif. inc.	Geimpfte	„	(II)	Nr. 10	7	Wochen	0,9718 „
	„	„	„	„ 11	9	„	0,6777 „
	„	„	„	„ 12	13	„	0,5762 „
	„	„	„	„ 13	14	„	0,6851 „
Ungeimpfte		„	IIb		9	„	1,0720 „
	„	„	IIIa		—		1,0349 „
B. R. v. Tr. inc.	Geimpfte	„	(III)	Nr. 14	6	Wochen	0,4597 „
	„	„	„	„ 15	8	„	0,1608 „
	„	„	„	„ 16	9	„	0,1591 „
Bac. Rad. v. Pisi sativi	„	„	„	„ 17	6	„	0,2854 „
	„	„	„	„ 18	6	„	0,2522 „
	„	„	„	„ 19	7	„	0,2902 „
	„	„	„	„ 20	13½	„	0,1390 „
	„	„	„	„ 21	13½	„	0,0871 „
	„	„	„	„ 22	13½	„	0,0737 „
Ungeimpfte		„	IIIb		9	„	1,0469 „

In der ungeimpften Fleischwassergelatine Nr. I und II, aus welchen die folgenden Nährböden Nr. 23 bis 46 bestehen, war kein Leim mehr vorhanden. Derselbe war bei der Herstellung des Nährbodens durch das Erhitzen mit wenig Sodalösung in eine durch Alkohol von 60—64 % nicht mehr fällbare, aber in einer Auflösung von Zinksulfat unlösliche Substanz verwandelt worden; Versuche mit reinem Leim und schwacher Sodalösung bestätigten diese Beobachtung. Auffallend muss es demnach erscheinen, dass die geimpften Nährböden beim Behandeln mit 60—64-prozentigem Alkohol im Gegensatz zu den ungeimpften teilweise eine nicht unbeträchtliche Menge leimartiger Substanz ergaben, wie die nachfolgenden Zahlen zeigen:

	Objekt				Alter der Kultur		Leimstickstoff
Bact. Nr. 8	Geimpfte	Fleischwassergelatine	(I)	Nr. 23	26	Wochen	0,0992 %
	„	„	„	„ 24	47	„	0,1211 „
	„	„	„	„ 25	47	„	0,0784 „
	„	„	„	„ 26	47	„	0,0682 „
	„	„	„	„ 27	47	„	0,0818 „

	Objekt				Alter der Kultur		Leimstickstoff
	Geimpfte	Fleischwassergelatine	(I)	Nr. 31	47	Wochen	0,0869 %
Bact. Nr. 12	„	„	„	32	47	„	0,0545 „
	„	„	„	33	47	„	0,0512 „
	„	„	„	34	47	„	0,0580 „
	„	„	„	35	47	„	0,0460 „
Bact. Nr. 39	„	„	„	39	48	„	0,0443 „
	„	„	„	40	48	„	0,0426 „
	„	„	„	41	48	„	0,0392 „
	„	„	„	42	48	„	0,0256 „
	„	„	„	43	48	„	0,0307 „
Bact. Nr. 8	„	„	(II)	„ 28	6	„	0,5704 „
	„	„	„	29	6	„	0,3972 „
	„	„	„	30	10	„	0,0687 „
Bact. Nr. 12	„	„	„	36	6	„	0,3025 „
	„	„	„	37	6	„	0,3600 „
	„	„	„	38	10	„	0,0603 „
Bact. Nr. 39	„	„	„	44	6	„	0,3676 „
	„	„	„	45	6	„	0,3076 „
	„	„	„	46	10	„	0,0586 „

Albumin. Für die Bestimmung des Albumins war es von Wichtigkeit, zu wissen, wie viel Stickstoff die Bakterienhäute, welche, wie oben erwähnt, durch Filtrieren nur schwierig entfernt werden konnten und in der zu untersuchenden Flüssigkeit suspendiert waren, enthielten. Zu diesem Zwecke wurden die suspendierten Stoffe dreier verdünnter Kulturen von Bac. Rad var. Viciae villosae am Boden gesammelt, die darüber stehende klare Flüssigkeit abgegossen und der Rückstand durch öfteres Verdünnen mit Wasser, Absetzenlassen, wiederholtes Abgiessen der darüber stehenden Flüssigkeit gut ausgewaschen und in ihnen nach *Kjeldahl* der Stickstoff bestimmt.

Diese von drei Kulturen gesammelten Bakterienhäute enthielten 0,0038025 g Stickstoff, eine Kultur durchschnittlich 0,0012675 g. Diese Menge ist demnach so gering, dass sie vernachlässigt werden konnte. Da die Kulturen der anderen Bakterien nicht eine so bedeutende Häutebildung zeigten, so ist der Stickstoffgehalt der suspendierten Stoffe derselben ebenfalls zu vernachlässigen.

Zur Bestimmung des Albuminstickstoffs wurden 50 ccm der verdünnten Nährbodenflüssigkeit mit Essigsäure stark angesäuert und zum Kochen erhitzt. Der entstandene Niederschlag wurde gesammelt und in ihm nach *Kjeldahl* der Stickstoff bestimmt.

In den ungeimpften Nährböden trat eine Albuminfällung nicht ein.

Die Bestimmungen ergaben folgende Werte für Albumin:

	Objekt				Alter der Kultur		Albuminstickstoff
Bac. Rad. var. Viciae villosae	Geimpfte	Bohnengelatine	(I)	Nr. 1	26	Wochen	0,0634 %
	„	„	„	„ 2	26	„	0,0651 „
	„	„	„	„ 3	26	„	0,0710 „
	„	„	„	„ 4	26	„	0,0651 „
	„	„	„	„ 5	26	„	0,0676 „
	„	„	„	„ 6	26	„	0,0634 „
	„	„	„	„ 7	41	„	0,0495 „
	„	„	„	„ 8	41	„	0,0495 „
	„	„	„	„ 9	41	„	0,0495 „
Bac. Rad. var. Trifol. incarn.	„	„	(II)	„ 10	7	„	0 „
	„	„	„	„ 11	9	„	0,0659 „
	„	„	„	„ 12	13	„	0,0503 „
	„	„	„	„ 13	14	„	0,0486 „
	„	„	(III)	„ 14	6	„	0 „
	„	„	„	„ 15	8	„	0,0251 „
	„	„	„	„ 16	9	„	0,0419 „
Bac. Rad. v. Pisi sativi	„	„	„	„ 17	6	„	0,0307 „
	„	„	„	„ 18	6	„	0,0307 „
	„	„	„	„ 19	7	„	0,0208 „
	„	„	„	„ 20	13½	„	0,0285 „
	„	„	„	„ 21	13½	„	0,0369 „
	„	„	„	„ 22	13½	„	0,0335 „
Bact. Nr. 8	„	Fleischwassergelatine	(I)	„ 23	26	„	0,0124 „
	„	„	„	„ 24	47	„	0,0443 „
	„	„	„	„ 25	47	„	0,0375 „
	„	„	„	„ 26	47	„	0,0375 „
	„	„	„	„ 27	47	„	0,0307 „
Bact. Nr. 12	„	„	„	„ 31	47	„	0,0239 „
	„	„	„	„ 32	47	„	0,0154 „
	„	„	„	„ 33	47	„	0,0222 „
	„	„	„	„ 34	47	„	0,0256 „
	„	„	„	„ 35	47	„	0,0188 „
Bact. Nr. 39	„	„	„	„ 39	48	„	0,0188 „
	„	„	„	„ 40	48	„	0,0307 „
	„	„	„	„ 41	48	„	0,0188 „
	„	„	„	„ 42	48	„	0,0375 „
	„	„	„	„ 43	48	„	0,0222 „
Bact. Nr. 8	„	„	(II)	„ 28	6	„	0,0211 „
	„	„	„	„ 29	6	„	0,0216 „
	„	„	„	„ 30	10	„	0,0218 „
Bact. Nr. 12	„	„	„	„ 36	6	„	0,0245 „
	„	„	„	„ 37	6	„	0,0166 „
	„	„	„	„ 38	10	„	0,0134 „
Bact. Nr. 39	„	„	„	„ 44	6	„	0,0228 „
	„	„	„	„ 45	6	„	0,0166 „
	„	„	„	„ 46	10	„	0,0134 „

Albumose. Die Albumose wurde im essigsauren Filtrat des Albumin-Niederschlags durch Aussalzen mit überschüssigem Zinksulfat gefällt, der Niederschlag gesammelt und in dem-

selben nach *Kjeldahl* der Stickstoff bestimmt. Von den erhaltenen Zahlen war, da die leimartigen Substanzen ebenfalls durch Zinksulfat gefällt wurden, der denselben entsprechende Stickstoffgehalt in Abzug zu bringen.

In den ungeimpften Bohnengelatinen ergab der durch Zinksulfat gefällte Niederschlag nur eine dem Leim-Stickstoff entsprechende Stickstoffmenge. Dieselben enthielten demnach keine Albumose.

In den geimpften Nährböden wurden gefunden:

	Objekt				Alter der Kultur	Albumose-stickstoff
Bac. Rad. var. Viciae villosae	Geimpfte	Bohnengelatine	(I)	Nr. 1	26 Wochen	0,1284 %
	„	„	„	„ 2	26 „	0,1995 „
	„	„	„	„ 3	26 „	0,1673 „
	„	„	„	„ 4	26 „	0,2858 „
	„	„	„	„ 5	26 „	0,1800 „
	„	„	„	„ 6	26 „	0,3752 „
	„	„	„	„ 7	41 „	0,2779 „
	„	„	„	„ 8	41 „	0,2088 „
	„	„	„	„ 9	41 „	0,2762 „
Bac. Rad. var. Trifol. incarn.	„	„	(II)	„ 10	7 „	0,2991 „
	„	„	„	„ 11	9 „	0,4614 „
	„	„	„	„ 12	13 „	0,0687 „
	„	„	„	„ 13	14 „	0,1843 „
	„	„	(III)	„ 14	6 „	0,2087 „
	„	„	„	„ 15	8 „	0,0469 „
	„	„	„	„ 16	9 „	0,0520 „
Bac. Rad. v. Pisi sativi	„	„	„	„ 17	6 „	0,0580 „
	„	„	„	„ 18	6 „	0,0858 „
	„	„	„	„ 19	7 „	0,0774 „
	„	„	„	„ 20	13½ „	0,0285 „
	„	„	„	„ 21	13½ „	0,0335 „
	„	„	„	„ 22	13½ „	0,0402 „

Die ungeimpften Fleischwassergelatinen enthielten:

	Albumose-Stickstoff
Ia	1,2927 %
Ib	1,2895 „
IIa	1,2344 „
IIb	1,2310 „

Die geimpften Fleischwassergelatinen Nr. 23—46 enthielten keinen Albumose-Stickstoff. Es wurde zwar bei ihnen durch Zinksulfat eine Fällung erhalten, dieselbe bestand aber dem Stickstoffgehalt gemäss nur aus Leim.

Peptone. Das Filtrat von dem Zinksulfat-Niederschlag diente zur qualitativen Prüfung auf Peptone. Das Zink wurde durch Sodalösung gefällt und das Filtrat nach dem Einengen

mit Natronlauge und einigen Tropfen zweiprozentiger Kupfersulfatlösung versetzt. Bei den meisten Kulturen trat Blauviolettfärbung ein und war dadurch die Anwesenheit von Peptonen erwiesen. Die ungeimpften Bohnengelatinen zeigten diese Reaktion nicht, dagegen erwiesen sich die geimpften je nach Alter und Bakterienart mehr oder weniger peptonhaltig. Die ungeimpften Fleischwassergelatinen gaben schwache, die geimpften mehr oder weniger starke Reaktion. Nur ganz alte Kulturen (11 Monate) gaben keine Reaktion mehr.

Quantitativ konnten die Peptone nach dem auf S. 21 Gesagten nur annährend durch Fällung mit Phosphorwolframsäurelösung bestimmt werden. Diese Lösung wurde in folgender Weise bereitet: 200 g wolframsaures Natrium und 120 g phosphorsaures Natrium wurden getrennt in Wasser gelöst, die Mischung auf 1 l aufgefüllt und derselben 100 ccm Salpetersäure zugesetzt.

Zur Fällung wurden 50 ccm des verdünnten Nährbodens stark mit Schwefelsäure angesäuert und mit 50 ccm obiger Phosphorwolframsäurelösung versetzt. Nach 7 Tagen wurde der Niederschlag abfiltriert, ausgewaschen und in demselben der Stickstoff bestimmt. Da, wie schon oben erwähnt, durch Phosphorwolframsäure auch Ammoniak, Leim, Albumin und Albumose gefällt werden, so mussten von der erhaltenen Stickstoffmenge die diesen Substanzen entsprechenden Stickstoffwerte abgezogen werden.

Es wurden gefunden:

	Objekt			Intensität der Peptonreaktion	Pepton- etc. stickstoff
	Ungeimpfte Bohnengelatine		Ia	keine	0,2953 %
Bac. Rad. var. Viciae villosae	Geimpfte	„	(I) Nr. 1	sehr starke	0,9286 „
	„	„	„ „ 2	„ „	0,9742 „
	„	„	„ „ 3	„ „	0,8382 „
	„	„	„ „ 4	„ „	0,7454 „
	„	„	„ „ 5	„ „	0,8898 „
	„	„	„ „ 6	„ „	0,8594 „
	„	„	„ „ 7	„ „	0,9566 „
	„	„	„ „ 8	„ „	1,0077 „
	„	„	„ „ 9	„ „	0,9531 „
	Ungeimpfte	„	Ib	keine	0,2839 „
	„	„	IIa	„	0,4347 „
B. R. v. Trif. inc.	Geimpfte	„	(II) Nr. 10	schwache	0,2704 „
	„	„	„ „ 11	„	0,3240 „
	„	„	„ „ 12	starke	0,6984 „
	„	„	„ „ 13	„	0,4320 „
	Ungeimpfte	„	IIb	keine	0,4335 „
	„	„	IIIa	„	0,1586 „

	Objekt					Intensität der Peptonreaktion	Pepton- etc. stickstoff
B. R. v. Tr. inc.	Geimpfte	Bohnengelatine	(III)	Nr.	14	starke	0,4890 %
	„	„	„	„	15	sehr starke	0,7538 „
	„	„	„	„	16	„ „	0,6280 „
Bac. Rad. v. Pisi sativi	„	„	„	„	17	„ „	0,7062 „
	„	„	„	„	18	„ „	0,7377 „
	„	„	„	„	19	„ „	0,7642 „
	„	„	„	„	20	„ „	0,6537 „
	„	„	„	„	21	„ „	0,6029 „
	„	„	„	„	22	„ „	0,5761 „
Ungeimpfte		„	IIIb			keine	0,1491 „
	„	Fleischwassergelatine	Ia			schwache	0,0713 „
Bact. Nr. 8	Geimpfte	„	(I)	Nr.	23	keine	0,2821 „
	„	„	„	„	24	„	0,2506 „
	„	„	„	„	25	„	0,3086 „
	„	„	„	„	26	„	0,2560 „
	„	„	„	„	27	„	0,2830 „
Bact. Nr. 12	„	„	„	„	31	schwache	0,4297 „
	„	„	„	„	32	„	0,4467 „
	„	„	„	„	33	„	0,4177 „
	„	„	„	„	34	„	0,4049 „
	„	„	„	„	35	„	0,5226 „
Bact. Nr. 39	„	„	„	„	39	keine	0,3495 „
	„	„	„	„	40	„	0,2916 „
	„	„	„	„	41	„	0,3000 „
	„	„	„	„	42	„	0,3087 „
	„	„	„	„	43	„	0,2540 „
Ungeimpfte		„	Ib			schwache	0,0735 „
	„	„	IIa			„	0,1237 „
Bact. Nr. 8	Geimpfte	„	(II)	Nr.	28	„	0,2975 „
	„	„	„	„	29	„	0,4607 „
	„	„	„	„	30	starke	0,5460 „
Bact. Nr. 12	„	„	„	„	36	„	0,5231 „
	„	„	„	„	37	„	0,4336 „
	„	„	„	„	38	„	0,6113 „
Bact. Nr. 39	„	„	„	„	44	„	0,4234 „
	„	„	„	„	45	„	0,4860 „
	„	„	„	„	46	„	0,6264 „
Ungeimpfte		„	IIb			schwache	0,1244 „

Amid-Stickstoff. Für die Bestimmung des Amid-Stickstoffs wurde das Filtrat von der Phosphorwolframsäurefällung benutzt. Dasselbe wurde auf 500 ccm aufgefüllt und 250 ccm mit Salzsäure in einem Kjeldahl-Kolben, welcher mit einem Rückflusskühler versehen war, zwei Stunden zur Umwandlung des Amid-Stickstoffs in Ammoniak gekocht. Dann wurde die Flüssigkeit annähernd mit Natronlauge neutralisiert und das Ammoniak durch Destillation mit gebrannter Magnesia bestimmt.

Die Analysen ergaben:

Objekt					Alter der Kultur	Amid-Stickstoff
Ungeimpfte Bohnengelatine		Ia			—	0,0558 %
Bac. Rad. var. Viciae villosae	Geimpfte	„	(I)	Nr. 1	26 Wochen	0,0270 „
	„	„	„	„ 2	26 „	0,0270 „
	„	„	„	„ 3	26 „	0,0270 „
	„	„	„	„ 4	26 „	0,0270 „
	„	„	„	„ 5	26 „	0,0254 „
	„	„	„	„ 6	26 „	0,0608 „
	„	„	„	„ 7	41 „	0,0273 „
	„	„	„	„ 8	41 „	0,0273 „
	„	„	„	„ 9	41 „	0,0273 „
Ungeimpfte		„	Ib		28 „	0,0541 „
„		„	IIa		—	0,0307 „
B. R. v. Trif. inc.	Geimpfte	„	(II)	Nr. 10	7 Wochen	0,0237 „
	„	„	„	„ 11	9 „	0,0203 „
	„	„	„	„ 12	13 „	0,0201 „
	„	„	„	„ 13	14 „	0,0469 „
Ungeimpfte		„	IIb		9 „	0,0321 „
„		„	IIIa		—	0,0205 „
B. R. v. Tr. inc.	Geimpfte	„	(III)	Nr. 14	6 Wochen	0,0203 „
	„	„	„	„ 15	8 „	0,0235 „
	„	„	„	„ 16	9 „	0,0201 „
Bac. Rad. v. Pisi sativi	„	„	„	„ 17	6 „	0,0203 „
	„	„	„	„ 18	6 „	0,0237 „
	„	„	„	„ 19	7 „	0,0220 „
	„	„	„	„ 20	13½ „	0,0235 „
	„	„	„	„ 21	13½ „	0,0201 „
	„	„	„	„ 22	13½ „	0,0201 „
Ungeimpfte		„	IIIb		9 „	0,0203 „
„	Fleischwassergelatine		Ia		—	0,0347 „
Bact. Nr. 8	Geimpfte	„	(I)	Nr. 23	26 Wochen	0,0507 „
	„	„	„	„ 24	47 „	0,0887 „
	„	„	„	„ 25	47 „	0,0682 „
	„	„	„	„ 26	47 „	0,0682 „
	„	„	„	„ 27	47 „	0,0512 „
Bact. Nr. 12	„	„	„	„ 31	47 „	0,0307 „
	„	„	„	„ 32	47 „	0,0273 „
	„	„	„	„ 33	47 „	0,0409 „
	„	„	„	„ 34	47 „	0,0409 „
	„	„	„	„ 35	47 „	0,0273 „
Bact. Nr. 39	„	„	„	„ 39	48 „	0,0460 „
	„	„	„	„ 40	48 „	0,0460 „
	„	„	„	„ 41	48 „	0,0273 „
	„	„	„	„ 42	48 „	0,0426 „
	„	„	„	„ 43	48 „	0,0256 „
Ungeimpfte		„	Ib		28 „	0,0338 „
„		„	IIa		–	0,0205 „
Bact. Nr. 8	Geimpfte	„	(II)	Nr. 28	6 Wochen	0,0203 „
	„	„	„	„ 29	6 „	0,0203 „
	„	„	„	„ 30	10 „	0,0285 „
Bact. Nr. 12	„	„	„	„ 36	6 „	0,0203 „
	„	„	„	„ 37	6 „	0,0203 „
	„	„	„	„ 38	10 „	0,0201 „

	Objekt				Alter der Kultur	Amid-Stickstoff
Bact. Nr. 39	Geimpfte	Fleischw.-Gelatine	(II)	Nr. 44	6 Wochen	0,0203 %
	„	„	„	„ 45	6 „	0,0203 „
	„	„	„	„ 46	10 „	0,0201 „
Ungeimpfte		„	IIb		6 „	0,0201 „

Ammoniak. Der Ammoniak-Stickstoff wurde in 25 ccm der verdünnten Nährböden durch Destillation mit gebrannter Magnesia bestimmt. In den ungeimpften Nährböden, Bohnengelatine sowohl wie Fleischwassergelatine, fiel die Bestimmung negativ aus.

	Objekt				Alter der Kultur	Ammoniak-Stickstoff
Bac. Rad. var. Vicine villosae	Geimpfte	Bohnengelatine	(I)	Nr. 1	26 Wochen	0,0558 %
	„	„	„	„ 2	26 „	0,0963 „
	„	„	„	„ 3	26 „	0,0744 „
	„	„	„	„ 4	26 „	0,0575 „
	„	„	„	„ 5	26 „	0,0879 „
	„	„	„	„ 6	26 „	0,0321 „
	„	„	„	„ 7	41 „	0,0818 „
	„	„	„	„ 8	41 „	0,0818 „
	„	„	„	„ 9	41 „	0,0750 „
Bac. Rad. var. Trifol. incarn.	„	„	„	„ 10	7 „	0 „
	„	„	„	„ 11	9 „	0,0304 „
	„	„	„	„ 12	13 „	0,0938 „
	„	„	„	„ 13	14 „	0,0235 „
	„	„	„	„ 14	6 „	0,0341 „
	„	„	„	„ 15	8 „	0,0737 „
	„	„	„	„ 16	9 „	0,0972 „
Bac. Rad. v. Pisi sativi	„	„	„	„ 17	6 „	0,0512 „
	„	„	„	„ 18	6 „	0,0546 „
	„	„	„	„ 19	7 „	0,0507 „
	„	„	„	„ 20	13½ „	0,1240 „
	„	„	„	„ 21	13½ „	0,1307 „
	„	„	„	„ 22	13½ „	0,1441 „
Bact. Nr. 8	„	Fleischwassergelatine	(I)	„ 23	26 „	0,1488 „
	„	„	„	„ 24	47 „	0,1773 „
	„	„	„	„ 25	47 „	0,2012 „
	„	„	„	„ 26	47 „	0,2353 „
	„	„	„	„ 27	47 „	0,2251 „
Bact. Nr. 12	„	„	„	„ 31	47 „	0,1688 „
	„	„	„	„ 32	47 „	0,1620 „
	„	„	„	„ 33	47 „	0,1756 „
	„	„	„	„ 34	47 „	0,2046 „
	„	„	„	„ 35	47 „	0,2012 „
Bact. Nr. 39	„	„	„	„ 39	48 „	0,2370 „
	„	„	„	„ 40	48 „	0,2182 „
	„	„	„	„ 41	48 „	0,2268 „
	„	„	„	„ 42	48 „	0,2660 „
	„	„	„	„ 43	58 „	0,3274 „

	Objekt		Alter der Kultur	Ammoniak-Stickstoff
Bact. Nr. 8	Geimpfte Fleischwassergelatine (II) Nr	28	6 Wochen	0,0608 %
	„ „ „ „	29	6 „	0,0669 „
	„ „ „ „	30	10 „	0,1072 „
Bact. Nr. 12	„ „ „ „	36	6 „	0,0777 „
	„ „ „ „	37	6 „	0,1142 „
	„ „ „ „	38	10 „	0,1173 „
Bact. Nr. 39	„ „ „ „	44	6 „	0,0980 „
	„ „ „ „	45	6 „	0,1142 „
	„ „ „ „	46	10 „	0,1240 „

Salpetrige Säure. Qualitativ wurden die verdünnten Nährböden auf Salpetrige Säure in der Weise geprüft, dass dieselben in Glascylindern mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Jodzinkstärkelösung versetzt wurden. Die Cylinder wurden darauf ins Dunkle gestellt. Zeigte sich nach einiger Zeit eine Blaufärbung, dann war die Gegenwart von Salpetriger Säure erwiesen. Diese Reaktion fiel bei allen geimpften wie ungeimpten Nährböden mit Ausnahme des Nährbodens Nr. 6 negativ aus. Bei den Nährböden Nr. 12, 16, 20, 21 und 22 schien die Bildung von Salpetriger Säure zu beginnen, da eine ganz schwache Blaufärbung entstand.

Da die Reaktion des Nährbodens Nr. 6 sehr stark ausfiel, so wurde versucht, die Salpetrige Säure quantitativ zu bestimmen.

Zu diesem Zwecke wurde in 25 ccm des verdünnten Nährbodens nach starkem Ansäuern mit Phosphorsäure die Salpetrige Säure im Kohlensäurestrome überdestillert und im Destillat dieselbe in Ammoniak übergeführt. Zu diesem Behufe wurden in einem Kjeldahl-Kolben je 5 g Eisen- und Zinkpulver und soviel Wasser dem Destillat zugegeben, dass die Flüssigkeit ca. 145 ccm betrug. Dann wurden 80 ccm Natronlauge zugefügt, der Kolben mit dem Destillationsapparat und der Säurevorlage verbunden und die Flüssigkeit unter öfterem Umrühren drei Stunden stehen gelassen. Darauf wurde das Ammoniak abdestilliert und als Salpetrige Säure-Stickstoff in Anrechnung gebracht.

Berechnung: Vorgelegt waren 5 ccm Säure, zurücktitriert wurde mit 6,725 ccm Lauge.

$$5 \text{ ccm Säure} = \underline{8{,}125 - 6{,}725 \text{ ccm Lauge}}$$

$$\underline{1{,}4 \times 0{,}00338}\,^{1)}$$

$$\begin{array}{r} 1352 \\ 338 \\ \hline 4732\,.\,2 \end{array}$$

in 50 ccm 0,009464 g Stickstoff.

[1]) Vgl. Seite 34.

Nährboden Nr. 6 enthielt also 0,0946 % Salpetrige Säure-Stickstoff.

Salpetersäure. Einige Kulturen ergaben mit Diphenylamin-Schwefelsäure eine sehr starke Reaktion, so dass eine quantitative Bestimmung der Salpetersäure angezeigt erschien. Dieselbe wurde nach der oben bei der Bestimmung der Salpetrigen Säure angegebenen Methode von *Böttcher* ausgeführt. Die erhaltene Menge Stickstoff abzüglich der für Ammoniak gefundenen[1]) entspricht der vorhandenen Menge Salpetersäure.

Die Bestimmungen ergaben:

	Objekt					Alter der Kultur	Salpetersäure-Stickstoff
Bact. Rad. var. Viciae villosae	Geimpfte	Bohnengelatine	(I)	Nr.	1	26 Wochen	0,1420 %
	„	„	„	„	2	26 „	0,1268 „
	„	„	„	„	3	26 „	0,0727 „
	„	„	„	„	4	26 „	0,0794 „
	„	„	„	„	5	26 „	0,0896 „
	„	„	„	„	6	26 „	0,0169 „
	„	„	„	„	7	41 „	0,0989 „
	„	„	„	„	8	41 „	0,0887 „
	„	„	„	„	9	41 „	0,0819 „

Gesamt-Stickstoff. Die Bestimmung des Gesamt-Stickstoffs wurde nach der S. 33 angegebenen Methode von *Kjeldahl* ausgeführt. Die geringe Menge Salpetersäure der Kulturen Nr. 1—6 konnte vernachlässigt werden, da bekanntermassen geringe Mengen Salpetersäure bei der *Kjeldahl*'schen Stickstoffbestimmung vollständig in Ammoniak übergeführt werden. Dessenungeachtet wurde in den Kulturen 7—9 der Stickstoffgehalt nach der *Jodlbauer*'schen Methode (S. 34) ermittelt.

	Objekt					Alter der Kultur	Gesamt-Stickstoff
Ungeimpfte	Bohnengelatine		Ia			—	1,7980 %
Bac. Rad. var. Viciae villosae	Geimpfte	„	(I)	Nr.	1	26 Wochen	1,8049 „
	„	„	„	„	2	26 „	1,8117 „
	„	„	„	„	3	29 „	1,8184 „
	„	„	„	„	4	26 „	1,7948 „
	„	„	„	„	5	26 „	1,8083 „
	„	„	„	„	6	26 „	1,8151 „
	„	„	„	„	7	41 „	1,7664 „
	„	„	„	„	8	41 „	1,7732 „
	„	„	„	„	9	41 „	1,7630 „
Ungeimpfte		„	Ib			28 „	1,7914 „

[1]) Bei Nährboden Nr. 6 wurde auch der der Salpetrigen Säure entsprechende Stickstoffgehalt abgezogen.

Objekt				Alter der Kultur	Gesamt-Stickstoff
Ungeimpfte Bohnengelatine		IIa		—	1,6283 %
B. R. var. Trif. inc.	Geimpfte	„	(II) Nr. 10	7 Wochen	1,6232 „
	„	„	„ „ 11	9 „	1,6275 „
	„	„	„ „ 12	13 „	1,6181 „
	„	„	„ „ 13	14 „	1,6013 „
Ungeimpfte		„	IIb	9 „	1,6214 „
„		„	IIIa	—	1,2958 „
B. R. v. Tr. inc.	Geimpfte	„	(III) Nr. 14	6 Wochen	1,2900 „
	„	„	„ „ 15	8 „	1,2831 „
	„	„	„ „ 16	9 „	1,2764 „
B. R. var. Pisi sativi	„	„	„ „ 17	6 „	1,2958 „
	„	„	„ „ 18	6 „	1,3060 „
	„	„	„ „ 19	7 „	1,3081 „
	„	„	„ „ 20	13½ „	1,2563 „
	„	„	„ „ 21	13½ „	1,2462 „
	„	„	„ „ 22	13½ „	1,2395 „
Ungeimpfte		„	IIIb	9 „	1,2898 „
„ Fleischwassergelatine			Ia	—	1,5128 „
Bact. Nr. 8	Geimpfte	„	(I) Nr. 23	26 Wochen	1,4880 „
	„	„	„ „ 24	47 „	1,4254 „
	„	„	„ „ 25	47 „	1,4288 „
	„	„	„ „ 26	47 „	1,4254 „
	„	„	„ „ 27	47 „	1,4203 „
Bact. Nr. 12	„	„	„ „ 31	47 „	1,3742 „
	„	„	„ „ 32	47 „	1,3708 „
	„	„	„ „ 33	47 „	1,4186 „
	„	„	„ „ 34	47 „	1,3776 „
	„	„	„ „ 35	47 „	1,4322 „
Bact. Nr. 39	„	„	„ „ 39	48 „	1,4663 „
	„	„	„ „ 40	48 „	1,4322 „
	„	„	„ „ 41	48 „	1,4527 „
	„	„	„ „ 42	48 „	1,4254 „
	„	„	„ „ 43	48 „	1,4458 „
Ungeimpfte		„	Ib	28 „	1,5109 „
„		„	IIa	—	1,4936 „
Bact. Nr. 8	Geimpfte	„	(II) Nr. 28	6 Wochen	1,4788 „
	„	„	„ „ 29	6 „	1,4737 „
	„	„	„ „ 30	10 „	1,4238 „
Bact. Nr. 12	„	„	„ „ 36	6 „	1,4433 „
	„	„	„ „ 37	6 „	1,4534 „
	„	„	„ „ 38	10 „	1,4171 „
Bact. Nr. 39	„	„	„ „ 44	6 „	1,4737 „
	„	„	„ „ 45	6 „	1,4771 „
	„	„	„ „ 46	10 „	1,4104 „
Ungeimpfte		„	IIb	6 „	1,4908 „

Stickstoffrest. In den vorstehenden Tabellen sind die Stickstoffmengen für Leim, Albumin, Albumose, Peptone, Basen, Amide, Ammoniak, Salpetrige Säure und Salpetersäure angegeben. Vergleicht man die Summen des in Form dieser Substanzen vorhandenen Stickstoffs mit dem Gesamt-Stick-

stoff, so verbleibt ein mehr oder weniger grosser Rest, den folgende Tabelle angiebt:

	Objekt				Alter der Kultur	Stickstoffrest
	Ungeimpfte Bohnengelatine		Ia		—	0,0465 %
Bac. Rad. var. Viciae villosae	Geimpfte	„	(I)	Nr. 1	26 Wochen	0,0473 „
	„	„	„	„ 2	26 „	0,0592 „
	„	„	„	„ 3	26 „	0,0652 „
	„	„	„	„ 4	26 „	0,0761 „
	„	„	„	„ 5	26 „	0,0455 „
	„	„	„	„ 6	26 „	0,0457 „
	„	„	„	„ 7	41 „	0,0562 „
	„	„	„	„ 8	41 „	0,0323 „
	„	„	„	„ 9	41 „	0,0818 „
	Ungeimpfte	„	Ib		28 „	0,0507 „
		„	IIa		—	0,0889 „
B. R. var. Trif. inc.	Geimpfte	„	(II)	Nr. 10	7 Wochen	0,0582 „
	„	„	„	„ 11	9 „	0,0478 „
	„	„	„	„ 12	13 „	0,1106 „
	„	„	„	„ 13	14 „	0,1809 „
	Ungeimpfte	„	IIb		9 „	0,0818 „
		„	IIIa		—	0,0818 „
B. R. v. Tr. inc.	Geimpfte	„	(III)	Nr. 14	6 Wochen	0,0782 „
	„	„	„	„ 15	8 „	0,1966 „
	„	„	„	„ 16	9 „	0,2781 „
Bac. Rad. v. Pisi sativi	„	„	„	„ 17	6 „	0,1440 „
	„	„	„	„ 18	6 „	0,1213 „
	„	„	„	„ 19	7 „	0,1828 „
	„	„	„	„ 20	13½ „	0,2596 „
	„	„	„	„ 21	13½ „	0,3350 „
	„	„	„	„ 22	13½ „	0,3518 „
	Ungeimpfte	„	IIIb		9 „	0,0735 „
	„	Fleischwassergelatine	Ia		—	0,1141 „
Bact. Nr. 8	Geimpfte	„	(I)	Nr. 23	26 Wochen	0,8948 „
	„	„	„	„ 24	47 „	0,7434 „
	„	„	„	„ 25	47 „	0,7249 „
	„	„	„	„ 26	47 „	0,7604 „
	„	„	„	„ 27	47 „	0,7485 „
Bact. Nr. 12	„	„	„	„ 31	47 „	0,6342 „
	„	„	„	„ 32	47 „	0,6649 „
	„	„	„	„ 33	47 „	0,7110 „
	„	„	„	„ 34	47 „	0,6436 „
	„	„	„	„ 35	47 „	0,6163 „
Bact. Nr. 39	„	„	„	„ 39	48 „	0,7707 „
	„	„	„	„ 40	48 „	0,8031 „
	„	„	„	„ 41	48 „	0,8406 „
	„	„	„	„ 42	48 „	0,7450 „
	„	„	„	„ 43	48 „	0,7859 „
	Ungeimpfte	„	Ib		28 „	0,1141 „
		„	IIa		—	0,1150 „
Bact. Nr. 8	Geimpfte	„	(II)	Nr. 28	6 Wochen	0,5087 „
	„	„	„	„ 29	6 „	0,5070 „
	„	„	„	„ 30	10 „	0,6516 „

	Objekt				Alter der Kultur		Stickstoffrest
Bact. Nr. 12	Geimpfte	Fleischwassergelatine	(II)	Nr. 36	6	Wochen	0,4952 %
	„	„	„	„ 37	6	„	0,5089 „
	„	„	„	„ 38	10	„	0,5947 „
Bact. Nr. 39	„	„	„	„ 44	6	„	0,6416 „
	„	„	„	„ 45	6	„	0,6324 „
	„	„	„	„ 46	10	„	0,5679 „
Ungeimpfte		„	IIb		6	„	0,1153 „

Zur Entscheidung der Frage, ob die Leguminosen-Bakterien auf künstlichen Nährböden freien Stickstoff zu binden vermögen, waren, wie schon oben gesagt, Bohnenabkochungen in geräumigen Rundkolben mit Bac. Rad. var. Trifolii incarnati und var. Pisi sativi geimpft worden. Diese Versuche wurden am 1. Oktober 1896 angestellt. Am 1. November wurde in je zwei der Kulturen der Gesamt-Stickstoff nach *Kjeldahl* bestimmt. Dasselbe geschah am 1. Dezember in weiteren je drei Kulturen. Zur Bestimmung diente der Gesamtinhalt der einzelnen Kolben. Die ungeimpfte Bohnenabkochung wurde teils sofort (a), teils am 1. Dezember (b) untersucht. Salpetersäure enthielten die Kulturen nicht.

Bei der mikroskopischen Untersuchung erwiesen sich sämtliche Kulturen als rein; grosse und kleine Stäbchen befanden sich in starker Bewegung. Beim Ueberimpfen auf Gelatine ging die Aussaat an den geimpften Stellen schon am folgenden Tage auf. Bei der Stickstoffbestimmung wurde zum Aufsaugen des Ammoniaks eine Schwefelsäure angewandt, von welcher 10 ccm zur Neutralisation 16,3 ccm Barytlauge brauchten. Von dieser entsprach 1 ccm 0,00335 g Stickstoff.

50 ccm Bohnenabkochung enthielten:

a) 20 ccm Säure = 32,6 — 4,2 ccm Lauge

$$\frac{28{,}4 \,.\, 0{,}00335}{1420}$$
$$852$$
$$852$$

0,09514 g Stickstoff.

b) 20 ccm Säure = 32,6 — 4,2 ccm Lauge

$$\frac{28{,}4 \,.\, 0{,}00335}{1420}$$
$$852$$
$$852$$

0,09514 g Stickstoff.

Ergebnisse der Bestimmungen.

Ungeimpft:

a) 0,0951 g N b) 0,0951 g N

Geimpft:

I. mit Bac. Rad. var. Trifol. incarn.

1. nach 1 Monat

a) 0,0876 g N b) 0,0884 g N

2. nach 2 Monaten

a) 0,0807 g N b) 0,0814 g N c) 0,0817 g N

II. mit Bac. Rad. var. Pisi sativi.

1. nach 1 Monat

a) 0,0878 g N b) 0,0874 g N

2. nach 2 Monaten

a) 0,0807 g N b) 0,0804 g N c) 0,0807 g N

In der Kultur von Bac. Rad. var. Trifolii incarnati fand sich nach einem Monat in den beiden untersuchten Kulturen 0,0876025 und 0,08844 g Gesamt-Stickstoff, während nach zwei Monaten in den drei untersuchten Kulturen noch 0,080735, 0,081405 und 0,08174 g Gesamt-Stickstoff vorhanden war.

In den Kulturen von Bac. Rad. var. Pisi sativi fanden sich nach einem Monat 0,08777 und 0,087435 g Gesamt-Stickstoff, nach zwei Monaten 0,080735, 0,0804 und 0,080735 g Gesamt-Stickstoff.

Kohlensäure-Bestimmung.

1. Kultur mit Bac. Rad. var. Viciae villosae.

Die beiden mit Natronkalk (I) und mit Natronkalk und Chlorcalcium (II) beschickten Röhrchen wogen vor dem Versuch am 17. Oktober 1895:

		I	55,9835 g	und	II	52,3570 g
am	16. Nov. 1895	„	56,6795 „	„	„	52,5875 „
„	30. „ „	„	56,7250 „	„	„	52,6060 „
„	16. Dez. „	„	56,7850 „	„	„	52,6250 „
„	8. Jan. 1896	„	56,8125 „	„	„	52,6295 „
„	25. „ „	„	56,8275 „	„	„	52,6370 „

Da die Kohlensäurezunahme nach dieser Zeit sehr spärlich war, wurde der Versuch abgeschlossen.

Es hatten Kohlensäure aufgenommen:

Röhre I	56,8275 g	Röhre II	52,637 g
	55,9835 „		52,357 „
	0,844 g CO_2		0,28 g CO_2,

also war im Ganzen in der Zeit vom 17. Oktober 1895 bis 25. Januar 1896 1,124 g Kohlensäure aus 100 g Leguminosengelatine I entwickelt worden.

2. Kultur mit Bac. Rad. var. Trifolii incarnati.

Die beiden gefüllten Röhrchen wogen vor dem Versuch am 14. August 1896:

		I	58,6340 g	und II	39,3220 g
am	3. Okt. 1896	„	59,1280 „	„ „	39,4280 „
„	10. „ „	„	59,1900 „	„ „	39,4345 „
„	24. „ „	„	59,2405 „	„ „	39,4775 „
„	6. Nov. „	„	59,2615 „	„ „	39,4930 „
„	23. „ „	„	59,2855 „	„ „	39,5210 „

Um diese Zeit wurden die gesamten Untersuchungen abgeschlossen. Es hatten also Kohlensäure aufgenommen:

Röhre I	59,2855 g	Röhre II	39,521 g
	58,6340 „		39,321 „
	0,6515 g CO_2		0,2 g CO_2

Mithin war im Ganzen in der Zeit vom 14. August 1896 bis 23. November 1896 0,8515 g Kohlensäure aus 100 g Bohnengelatine II entwickelt worden.

Wie bei der Beschreibung des Apparats (S. 23) schon erwähnt, war hinter dem Kulturgefäss eine Waschflasche mit einer bestimmten Menge Schwefelsäure von bekanntem Gehalt eingeschaltet worden, um eine etwaige Verflüchtigung von Ammoniak zu konstatieren. Bei Bac. Rad. var. Viciae villosae waren es nur sehr geringe Mengen, welche aber mit Nessler's Reagens eine sehr starke Ammoniak-Reaktion ergaben, ebenso waren es bei Bac. Rad. var. Trifolii incarnati nur sehr geringe Mengen, welche ebenfalls mit Nessler's Reagens eine sehr starke Reaktion ergaben.

Bei beiden Versuchen wurde demnach in der Vorlage das Vorhandensein geringer Mengen Ammoniak nachgewiesen.

Bodensatz. Wie schon oben erwähnt, hatten sich bei den älteren Kulturen der *Caron*'schen Bakterien Krystalle abgesetzt. Dieselben waren farblos, stark lichtbrechend und gehörten dem rhombischen System an. Sie lösten sich sehr wenig in Wasser, leicht dagegen in verdünnter Salzsäure. Auf Platinblech geglüht, blieb ein weisslicher Rückstand übrig.

Die chemische Untersuchung ergab, dass sie aus phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia ($Mg(NH_4) . PO_4 + 6 H_2O$) bestanden.

Um darüber Gewissheit zu haben, ob auch andere Leguminosen-Bakterien sich so verhalten, wie die drei zu den vorstehenden Untersuchungen verwendeten, wurden qualitative Prüfungen mit den Lösungen der folgenden Kulturen, welche ich der Freundlichkeit der Höchster Farbwerke verdankte, nach dem im Untersuchungsgange angegebenen Verfahren auf Anwesenheit von Salpetriger Säure, Salpetersäure und Peptonen angestellt. Der ungeimpfte Nährboden war frei von diesen Bestandteilen.

Bac. Rad. var. Viciae villosae. Die Kultur war am 17. April 1896 geimpft worden. Die Lösung derselben zeigte am 8. Okt. 1896 eine sehr starke Reaktion auf Salpetrige Säure, Salpetersäure und Peptone.

Bac. Rad. var. Viciae sativae. Der geimpfte Nährboden war ungefähr drei Monate alt und zeigte eine sehr starke Reaktion auf Salpetrige Säure und Salpetersäure, auf Peptone eine schwache Reaktion.

Bac. Rad. var. Trifolii pratensis. Die am 25. März 1896 geimpfte Gelatine zeigte am 25. Juli 1896 eine starke Reaktion auf Salpetrige Säure und Salpetersäure und eine sehr starke auf Peptone.

Bac. Rad. var. Trifolii incarnati. Die ungefähr fünf Monate alte Kultur zeigte nur starke Salpetersäure- und Pepton-Reaktion.

Bac. Rad. var. Medicaginis sativae. Die am 10. April 1896 geimpfte Gelatine zeigte am 8. Oktober 1896 sehr starke Reaktion auf Salpetrige Säure und Salpetersäure und eine starke auf Peptone.

Bac. Rad. var. Lupini lutei. Die am 27. Juli geimpfte Gelatine zeigte am 7. Oktober eine sehr starke Reaktion auf Salpetrige Säure, Salpetersäure und Peptone.

Von Bac. Rad. var. Viciae Fabae und var. Lathyri silvestris waren in Reagensgläschen Reinkulturen vorhanden, welche am 14. November 1895 geimpft waren. Bei der Untersuchung auf Salpetrige Säure und Salpetersäure am 10. Oktober 1896 zeigte sich bei beiden eine sehr schwache Salpetersäure-Reaktion.

Bac. Rad. var. Medicaginis lupulinae. Dieses Bakterium war am 20. März 1896 auf den Nährboden geimpft.

Bei der Prüfung zeigte sich eine sehr starke Reaktion auf Salpetrige Säure und eine geringe auf Salpetersäure.

Bac. Rad. var. Pisi sativi. Die Kultur, welche am 14. April 1896 geimpft war, zeigte am 29. Oktober 1896 eine sehr starke Reaktion auf Salpetrige Säure und eine schwache auf Salpetersäure.

Bac. Rad. var. Onobrychis sativae. Der Nährboden war am 14. April 1896 geimpft worden und zeigte am 28. Okt. 1896 nur eine schwache Reaktion auf Salpetrige Säure.

Bac. Rad. var. Viciae Fabae. Die Kultur, welche am 29. April 1896 geimpft war, zeigte am 29. Oktober 1896 eine schwache Reaktion auf Salpetrige Säure.

Bac. Rad. var Viciae sativae. Der am 27. April 1896 geimpfte Nährboden von Vicia sativa zeigte am 29. Okt. 1896 eine schwache Reaktion auf Salpetrige Säure.

Die zu den vorstehenden Analysen gehörigen Belegzahlen sind am Schluss der Arbeit tabellarisch geordnet angeführt; die Ergebnisse der Untersuchungen sind in drei Tabellen am Schluss der Arbeit zusammengestellt.

Schluss.

Aus den Resultaten der im Vorstehenden beschriebenen Versuche ergiebt sich zunächst, dass die zur Verwendung gelangten Bakterien erhebliche chemische Wirkungen auf das Nährsubstrat geäussert haben. Dass die Wirkungen keine zufälligen sind, beweisen die unter sich gut übereinstimmenden Resultate der Parallelversuche.

Zu den Versuchen war zur Züchtung des Bacillus Radicicola ein mit Citronensäure angesäuerter Nährboden verwandt worden, dessen Hauptbestandteile neben Leim, Asparagin und Rohrzucker die aus dem Bohnenkraut gelösten Stoffe ausmachten. Der zur Züchtung der Bodenbakterien verwandte alkalische Nährboden enthielt ausser den Bestandteilen des wässerigen Fleischauszuges hauptsächlich Leim und Pepton.

In allen Kulturen stellt der Leim den Hauptnährstoff für die Bakterien dar und wird denselben in den sauren Nährböden unverändert, in den alkalischen aber hydrolysiert, als durch Alkohol nicht, wohl aber durch Zinksulfatlösung fällbare Leim-Albumose geboten.

Mannigfacher Art sind die Veränderungen, welchen diese beiden Stoffe — Leim und Leim-Albumose — durch die Thätigkeit der Bakterien unterliegen. Schon einige Wochen nach der Impfung der Nährböden ist eine Abnahme der Menge des Leims bemerklich. Dieselbe ist abhängig von dem mehr oder weniger kräftigen Wachstum der einzelnen Varietäten, und dieses wiederum wird sehr durch die mehr oder weniger starke Concentration des Nährbodens beeinflusst, wie es sehr deutlich aus den Analysenergebnissen des Bac. Rad. var. Trifolii incarnati auf Bohnengelatine II und III hervorgeht. Der an Nährstoffen ärmere Nährboden III wurde bedeutend schneller zersetzt, als der Nährboden II. Nach neunwöchentlicher Einwirkung waren bei letzterem etwa 40 %, bei ersterem etwa 85 % des Leims in andere Verbindungen, Albumosen, Peptone, Basen und Ammoniak übergeführt worden.

Wesentlich anders gestaltet sich die Einwirkung der Bodenbakterien auf die Leim-Albumose. Dieselbe scheint ein vorzügliches Nährmaterial für die Bakterien zu sein, denn sie ist schon nach einigen Wochen nicht mehr nachzuweisen. Zum Teil ist sie peptonisiert, zum Teil aber in Basen und Leim oder in leimähnliche, durch mässig starken Alkohol fällbare Substanz zurückverwandelt worden, welche bei fortschreitendem Alter der Kulturen allmählich peptonisiert oder in Basen umgewandelt wird.

Auch in Betreff der Albumosen hat die Untersuchung ein eigentümliches Resultat ergeben. So lange die Reaktion des mit Bacillus Radicicola geimpften Nährbodens sauer ist, findet eine Neubildung von Albumose durch die Thätigkeit der Bakterien statt. Mit zunehmender Alkalescenz wird diese Albumose aber schnell unter Bildung von Peptonen und Basen zersetzt. Ganz besonders in die Augen fallend ist dieser Vorgang bei der Einwirkung der Varietäten von Trifolium und Pisum (vgl. Nährboden Nr. 14 und 15, Nr. 17 bis 21) auf die Nährböden.

Dass die beobachtete Neubildung von Albumosen von den Bakterien veranlasst wird und nicht eine Folge der Wirkung der Citronensäure auf den Leim und die anderen löslichen Stickstoffverbindungen ist, lässt sich daraus erkennen, dass die gleichzeitig angestellte Untersuchung des nicht geimpften Materials auch nach wochenlangem Stehen des Nährbodens keine Spur von Albumosen erkennen liess[1]).

Bei den von vornherein alkalischen Nährböden der Bodenbakterien kommt es nicht zur Neubildung von Albumosen, sondern die vorhandenen werden bald aufgebraucht.

Durch die Thätigkeit der Bakterien werden des weiteren stickstoffhaltige Substanzen gebildet, welche wie Albumin beim Kochen mit Essigsäure aus ihren Lösungen gefällt werden. Die Menge dieser Substanzen ist indessen so gering, dass aus derselben Schlüsse auf eine Albuminbildung durch die Lebensthätigkeit der Bakterien nicht gezogen werden können.

Mit der Zersetzung des Leims und weiter der Albumosen geht Hand in Hand die Bildung von durch Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen, in erster Linie von

---

[1]) Weitere Versuche mit fortwährend sauer gehaltenen Nährböden behält sich der Verfasser vor.

Peptonen und basischen Körpern[1]). Diese Substanzen stellen die Hauptzersetzungsprodukte des Leims dar und bilden bei alten Kulturen des Bacillus Radicicola etwa die Hälfte aller Stickstoffverbindungen. Die Hauptmenge des Niederschlags wird wohl aus Peptonen bestehen und steht im Verhälnis zu der Intensität der Peptonreaktion. Aus den qualitativen Peptonreaktionen der übrigen, sonst nicht weiter untersuchten Radicicola-Kulturen, welche auf Seite 50—51 erwähnt sind, ist der Schluss zu ziehen, dass sämtliche Varietäten des Bacillus Radicicola Peptonbilder sind

Auch die Bodenbakterien verursachen besonders in jungen Kulturen eine starke Peptonbildung. Mit zunehmendem Alter verschwinden indessen die Peptone und gehen in basische Körper über, welche teils durch Phosphorwolframsäure fällbar, teils im Ueberschuss dieses Reagens löslich sind.

Als letztes Abbauprodukt des Leims ist das Ammoniak anzusprechen, welches zwar langsam, aber doch in zunehmender Menge gebildet wird. Bei den mit Bac. Rad. var. Pisi sativi infizierten Kulturen war die Ammoniakbildung reichlicher, als bei den übrigen Leguminosenbacillen. Dagegen erweisen sich die Bodenbakterien als starke Ammoniakproduzenten. So war bei etwa einjährigen Kulturen des Wurzelbacillus (Nr. 39) etwa der sechste Teil des Gesamt-Stickstoffs in Form von Ammoniak vorhanden.

Die Menge des in den Kulturen vorhandenen Ammoniaks steht mit der Alkalinität derselben in keinem progressiven Verhältnis. Die alkalische Reaktion der von vornherein sauren Nährböden des Bacillus Radicicola wird in erster Linie, besonders in den jungen Kulturen, durch das Vorhandensein organischer, nicht flüchtiger Basen verursacht. Die Menge des vorhandenen Ammoniaks ist bei den jungen Kulturen geringer als die der Alkalinität entsprechende. Bei Kultur Nr. 10 wird die Alkalinität nur durch organische Basen verursacht, da diese Kultur frei von Ammoniak ist.

Anders bei den Kulturen der Bodenbakterien. Hier überwiegt die Menge des Ammoniaks bedeutend die der Alkalinität entsprechende Basenmenge. Ein Teil des Ammoniaks dürfte demnach an organische Säuren gebunden sein. Mit diesem Befund in Einklang steht der Verlust an

---

[1]) Eine nähere Untersuchung und event. Trennung der basischen Körper behält sich der Verfasser für eine spätere Untersuchung vor.

Rohfett, den diese Kulturen erlitten haben. Ein Teil des letzteren ist unter Bildung von fettsaurem Ammoniak verseift worden.

Bei den Kulturen der Bodenbakterien ist das Ammoniak als letztes Produkt des Abbaues des Eiweiss- bezw. Leimmoleküls anzusehen. Bei den Kulturen des Bacillus Radicicola geht die Einwirkung der Bakterien aber noch weiter, indem Salpetrige Säure und Salpetersäure als Oxydationsprodukte des Ammoniaks in den älteren Kulturen auftreten. Die Menge der gebildeten Salpetersäure in den Kulturen der Varietät von Viciae villosae ist so gross, dass eine quantitative Bestimmung vorgenommen werden konnte. Dies Resultat ist um so auffallender, als verschiedene Forscher, wie *Hellriegel* (vgl. dazu Landw. Jahrbücher 1894, S. 667), *Beyerinck* (Botan. Zeitung 1888 u. 1890) und *Gonnermann* (Landw. Jahrbücher 1894, S. 667) zu entgegengesetzten Resultaten gekommen sind. Dieselben haben durch Zusatz von Ammoniaksalzen zu den Nährböden eine Bildung von Salpetersäure nicht nachweisen können. Da aber bei meinen mit Reinkulturen ausgeführten Versuchen eine Infektion durch nitratbildende Bodenbakterien vollständig ausgeschlossen ist, so kann mit Bestimmtheit nur der Bacillus Radicicola als der Urheber der Nitratbildung angesehen werden.

In den Kulturen der Bodenbakterien konnte weder nach kurzer Zeit, noch nach 1 Jahr langer Einwirkung das Vorhandensein der erwähnten Säuren nachgewiesen werden.

Eine Neubildung von Amiden (Asparagin u. a.) durch die Thätigkeit der Bakterien konnte eigentümlicher Weise nur bei den beiden Kulturen constatiert werden, welche zwecks Bestimmung der Kohlensäure monatelang einem Luftstrom ausgesetzt gewesen waren. Es ist demnach wahrscheinlich, dass durch Zufuhr von Sauerstoff die Bildung von Amiden begünstigt wird.

Die Summe des Stickstoffs in den vorstehend erwähnten Verbindungen erreicht nicht die Menge des Gesamt-Stickstoffs. Der verbleibende Stickstoffrest ist vermutlich in Form basischer Substanzen vorhanden, welche im Ueberschuss der Phosphorwolframsäure löslich sind und sich der Untersuchung entziehen. Die Menge dieser Verbindungen nimmt bei Bacillus Radicicola anfangs mit dem Wachstum der Kulturen zu (vgl. die Analysenergebnisse von Varietät Trifolium incarnatum und Pisum sativum) und verringert

sich dann im Laufe der Zeit wieder, wie aus den Kulturen des Bac. Rad. var. Viciae villosae zu ersehen ist.

Anders bei den Bodenbakterien. Hier nimmt die Menge der durch die angewandten Reagentien nicht fällbaren Substanzen, in erster Linie wohl basischer Körper, ganz bedeutend zu und beträgt schliesslich die Hälfte aller Stickstoffverbindungen.

Eine Zunahme an Gesamtstickstoff konnte bei beiden Bakterienarten nicht constatiert werden, wohl aber trat eine geringe Verminderung des Stickstoffgehaltes ein, welche einem Verluste an gasförmigem Ammoniak zuzuschreiben ist.

Da von einigen Forschern — so von *Beyerinck* — eine Stickstoffzunahme der Nährböden von Bacillus Radicicola beobachtet worden ist, erschien es angebracht, die bei meinen Untersuchungen erhaltenen Resultate, betreffend den Gesamt-Stickstoff, durch spezielle Versuche zu controllieren. Die mit Bohnenkrautabkochung ohne Gelatine angestellten Versuche führten aber zu gleichen Resultaten. Auch hier hat eine Stickstoffzunahme nicht constatiert werden können, wohl aber eine geringe durch Ammoniakverlust verursachte Stickstoffabnahme.

Demnach haben die Leguminosenbakterien sowie die zum Vergleich herangezogenen Subtilis-, Proteus- und Wurzelbacillus-Arten **nicht** die Fähigkeit, den elementaren Stickstoff der Luft unter den angegebenen Kulturbedingungen zu fixieren.

Kohlensäure wird in reichem Masse in allen Nährböden entwickelt. Dieselbe entstammt in den Kulturen der Leguminosenbakterien nicht allein dem zugesetzten Zucker — andere Kohlehydrate waren nicht vorhanden — sondern auch den organischen Stickstoffverbindungen, da die Menge der erhaltenen Kohlensäure die der angewandten Zuckermenge entsprechende bedeutend übertrifft.

Auch die Bodenbakterien entwickeln stark Kohlensäure, wie frühere Arbeiten der hiesigen Versuchsstation ergeben haben.

Mit der starken Kohlensäure-Entwickelung steht auch die Verminderung der Trockensubstanz in den Kulturen aller Bakterien in Beziehung.

Bei der Einwirkung einiger Mikroorganismen auf zuckerhaltige Nährböden — abgesehen von den Hefearten — ist

die Bildung von Alkohol beobachtet worden. Eine Prüfung meiner Kulturen ergab in dieser Hinsicht ein negatives Resultat.

Es erübrigt noch, das Verhalten des in den Nährböden enthaltenen Fettes bei der Einwirkung der Bakterien zu beleuchten. Auch hier bemerken wir eine auffallende Verschiedenheit in der chemischen Wirkung der angewandten Bakterien. Während die Varietäten des Bacillus Radicicola das Fett nicht nur nicht angreifen, sondern die Menge desselben um ein kleines vermehren, sehen wir bei den mit den Bodenbakterien inficierten Kulturen eine Abnahme des Fettgehaltes um die Hälfte. Wie bei der Besprechung der in Betreff des Ammoniaks erhaltenen Resultate schon erwähnt wurde, ist dieser Verlust an Rohfett auf eine Bildung von fettsaurem Ammoniak zurückzuführen.

Beim Vergleich der einzelnen Resultate der vorstehend beschriebenen Versuche ist der grosse Unterschied in der Wirkungsweise der Bodenbakterien gegenüber den Leguminosenbakterien besonders hervorstechend. Dies Ergebnis steht im Einklang mit den in der Einleitung hervorgehobenen Mannigfaltigkeiten der Bakterienwirkungen.

Die eine Bakterienart gibt Anlass zur Neubildung von Fett und Albumose, die andere zersetzt diese Substanzen, die eine übt oxydierende Wirkungen aus, die andere nicht. Es ist wohl anzunehmen, dass diese verschiedenartigen Wirkungen auf die Bildung von Fermenten zurückzuführen sind, deren Vorhandensein in Bakterienkulturen schon vielfach constatiert worden ist.

Ueber die Fermente der Leguminosenbazillen sollen weitere Versuche Ausschluss geben. Es ist möglich, dass auch die wichtige Frage der Stickstofffixierung durch die Leguminosenbakterien hierbei eine Beantwortung findet.

Tabellarische Zusammenstellung

(Analytische

Analysen-Ergebnisse der

Nummer und Art des Nährbodens	Alter der Kultur	Bakterien-Typus	Acidität in g Citronensäure	Alkalinität in g Aetznatrium	Trocken-substanz	Rohfett	Leim-Stickstoff	Albumin-Stickstoff
	Wochen	Bac. Rad. var.			%	%	%	%
Ia	—	**Ungeimpft**	**0,084**	—	**12,51**	**0,160**	**1,4004**	**0**
I Nr. 1	26	Viciae villosae	—	0,120	10,96	0,175	0,4124	0,0634
„ „ 2	26	„ „	—	0,136	10,74	0,190	0,2636	0,0651
„ „ 3	26	„ „	—	0,120	10.94	0,235	0,5053	0,0710
„ „ 4	26	„ „	—	0,104	11,02	0,220	0,4570	0,0651
„ „ 5	26	„ „	—	0,120	11,16	0,190	0,4225	0,0676
„ „ 6	26	„ „	—	0,096	11,25	0,175	0,2670	0,0634
„ „ 7	41	„ „	—	0,280	10,83	0,190	0,2182	0,0495
„ „ 8	41	„ „	—	0,280	11,22	0,190	0,2771	0,0495
„ „ 9	41	„ „	—	0,280	10,74	0,220	0,2472	0,0495
Ib	**28**	**Ungeimpft**	**0,084**	—	**12,35**	**0,180**	**1,4027**	**0**
IIa	—	**Ungeimpft**	**0,098**	—	**11,25**		**1,0742**	**0**
II Nr. 10	7	Trifol. incarn.	—	0,040	10,58		0,9718	0
„ „ 11	9	„ „	—	0,080	10,06		0,6777	0,0659
„ „ 12	13	„ „	—	0,192	10,07		0,5762	0,0503
„ „ 13	14	„ „	—	0,056	9,90		0,6851	0,0486
IIb	**9**	**Ungeimpft**	**0,105**	—	**11,30**		**1,0720**	**0**
IIIa	—	**Ungeimpft**	**0,098**	—	**8,43**		**1,0349**	**0**
III Nr. 14	6	Trifol. incarn.	—	0,056	8,02		0,4597	0
„ „ 15	8	„ „	—	0,144	7,46		0,1608	0,0251
„ „ 16	9	„ „	—	0,192	7,58		0,1591	0,0419
„ „ 17	6	Pisi sativi	—	0,120	7,47		0,2854	0,0307
„ „ 18	6	„ „	—	0,104	7,51		0,2522	0,0307
„ „ 19	7	„ „	—	0,104	7,50		0,2902	0,0208
„ „ 20	13½	„ „	—	0,208	7,24		0,1390	0,0285
„ „ 21	13½	„ „	—	0,200	7,26		0,0871	0,0369
„ „ 22	13½	„ „	—	0,224	7,06		0,0737	0,0335
IIIb	**9**	**Ungeimpft**	**0,098**	—	**8,31**		**1,0469**	**0**

der Analysen-Ergebnisse.

Belege.)

Nährböden aus Bohnengelatine.

Albumose-Stickstoff %	Pepton-Reaktion	Stickstoff der Peptone u. organ. Basen %	Amid-Stickstoff %	Ammoniak-Stickstoff %	Salpetrige Säure-Stickstoff %	Salpetersäure-Stickstoff %	Gesamt-Stickstoff %	Stickstoffrest %
0	**keine**	**0,2953**	**0,0558**	**0**	**0**	**0**	**1,7980**	**0,0465**
0,1284	sehrstarke	0,9286	0,0270	0,0558	0	0,1420	1,8049	0,0473
0,1995	„ „	0,9742	0,0270	0,0963	0	0,1268	1,8117	0,0592
0,1673	„ „	0,8382	0,0270	0,0744	0	0,0727	1,8184	0,0652
0,2858	„ „	0,7454	0,0270	0,0575	0	0,0794	1,7948	0,0761
0,1800	„ „	0,8898	0,0254	0,0879	9	0,0896	1,8083	0,0455
0,3752	„ „	0,8594	0,0608	0,0321	0,0946	0,0169	1,8151	0,0457
0,2779	„ „	0,9566	0,0273	0,0818	0	0,0989	1,7664	0,0562
0,2088	„ „	1,0077	0,0273	0,0818	0	0,0887	1,7732	0,0323
0,2762	„ „	0,9531	0,0273	0,0750	0	0,0819	1,7630	0,0818
0	**keine**	**0,2839**	**0,0541**	**0**	**0**	**0**	**1,7914**	**0,0507**
0	**keine**	**0,4347**	**0,0307**	**0**	**0**	**0**	**1,6283**	**0,0889**
0,2991	schwache	0,2704	0,0237	0	0	0	1,6232	0,0582
0,4614	„	0,3240	0,0203	0,0304	0	0	1,6275	0,0478
0,0687	starke	0,6984	0,0201	0,0938	sehrschwach	0	1,6181	0,1106
0,1843	„	0,4320	0,0469	0,0235	0	0	1,6013	0,1809
0	**keine**	**0,4335**	**0,0321**	**0**	**0**	**0**	**1,6214**	**0,0818**
0	**keine**	**0,1586**	**0,0205**	**0**	**0**	**0**	**1,2958**	**0,0818**
0,2087	starke	0,4890	0,0203	0,0341	0	0	1,2900	0,0782
0,0469	sehrstarke	0,7538	0,0235	0,0737	0	0	1,2831	0,1966
0,0520	„ „	0,6280	0,0201	0,0972	sehrschwach	0	1,2764	0,2781
0,0580	„ „	0,7062	0,0203	0,0512	0	0	1,2958	0,1440
0,0858	„ „	0,7377	0,0237	0,0546	0	0	1,3060	0,1213
0,0774	„ „	0,7642	0,0220	0,0507	0	0	1,3081	0,1828
0,0285	„ „	0,6537	0,0235	0,1240	sehrschwach	0	1,2563	0,2596
0,0335	„ „	0,6029	0,0201	0,1307	„ „	0	1,2462	0,3350
0,0402	„ „	0,5761	0,0201	0,1441	„ „	0	1,2395	0,3518
0	**keine**	**0,1491**	**0,0203**	**0**	**0**	**0**	**1,2898**	**0,0735**

Analysen-Ergebnisse der

Nummer und Art des Nährbodens	Alter der Kultur	Bakterien-Typus	Alkalinität in g NaOH	Trocken-substanz	Rohfett	Leim-Stickstoff	Albumin-Stickstoff
	Wochen			%	%	%	%
Ia	—	**Ungeimpft**	**0,120**	**10,01**	**0,310**	**0**	**0**
I Nr. 23	26	Nr. 8 (Subtilis)	0,216	9,27	0,115	0,0992	0,0124
„ „ 24	47	„ „	0,232	9,13	0,170	0,1211	0,0443
„ „ 25	47	„ „	0,232	8,78	0,180	0,0784	0,0375
„ „ 26	47	„ „	0,240	8,27	0,220	0,0682	0,0375
„ „ 27	47	„ „	0,240	8,55	0,185	0,0818	0,0307
„ „ 31	47	Nr. 12 (Proteus)	0,256	8,12	0,130	0,0869	0,0239
„ „ 32	47	„ „	0,256	8,44	0,150	0,0545	0,0154
„ „ 33	47	„ „	0,264	8,76	0,110	0,0512	0,0222
„ „ 34	47	„ „	0,272	8,23	0,180	0,0580	0,0256
„ „ 35	47	„ „	0,272	8,78	0,140	0,0460	0,0188
„ „ 39	48	Nr. 39 (Wurzelbac.)	0,280	9,11	0,140	0,0443	0,0188
„ „ 40	48	„ „	0,272	9,01	0,120	0,0426	0,0307
„ „ 41	48	„ „	0,272	9,18	0,150	0,0392	0,0188
„ „ 42	48	„ „	0,216	8,82	0,120	0,0256	0,0375
„ „ 43	48	„ „	0,216	8,72	0,135	0,0307	0,0222
Ib	**28**	**Ungeimpft**	**0,120**	**9,90**	**0,310**	**0**	**0**
IIa	—	**Ungeimpft**	**0,072**	**9,23**		**0**	**0**
II Nr. 28	6	Nr. 8 (Subtilis)	0,160	9,12		0,5704	0,0211
„ „ 29	6	„ „	0,160	9,11		0,3972	0,0216
„ „ 30	10	„ „	0,192	9,18		0,0687	0,0218
„ „ 36	6	Nr. 12 (Proteus)	0,216	9,20		0,3025	0,0245
„ „ 37	6	„ „	0,208	9,40		0,3600	0,0166
„ „ 38	10	„ „	0,232	9,11		0,0603	0,0134
„ „ 44	6	Nr. 39 (Wurzelbac.)	0,216	9,54		0,3676	0,0228
„ „ 45	6	„ „	0,216	9,30		0,3076	0,0166
„ „ 46	10	„ „	0,232	9,02		0,0586	0,0134
IIb	**6**	**Ungeimpft**	**0,072**	**9,23**		**0**	**0**

Nährböden aus Fleischwassergelatine.

Nummer und Art des Nährbodens	Albumose-Stickstoff %	Pepton-Reaktion	Stickstoff der Peptone u. organ. Basen %	Amid-Stickstoff %	Ammoniak-Stickstoff %	Gesamt-Stickstoff %	Stickstoffrest %
Ia	**1,2927**	**schwache**	**0,0713**	**0,0347**	**0**	**1,5128**	**0,1141**
I Nr. 23	0	0	0,2821	0,0507	0,1488	1,4880	0,8948
„ „ 24	0	0	0,2506	0,0887	0,1773	1,4254	0,7434
„ „ 25	0	0	0,3086	0,0682	0,2012	1,4288	0,7249
„ „ 26	0	0	0,2560	0,0682	0,2353	1,4254	0,7604
„ „ 27	0	0	0,2830	0,0512	0,2251	1,4203	0,7485
„ „ 31	0	schwache	0,4297	0,0307	0,1688	1,3742	0,6342
„ „ 32	0	„	0,4467	0,0273	0,1620	1,3708	0,6649
„ „ 33	0	„	0,4177	0,0409	0,1756	1,4186	0,7110
„ „ 34	0	„	0,4049	0,0409	0,2046	1,3776	0,6436
„ „ 35	0	„	0,5226	0,0273	0,2012	1,4322	0,6163
„ „ 39	0	0	0,3495	0,0460	0,2370	1,4663	0,7707
„ „ 40	0	0	0,2916	0,0460	0,2182	1,4322	0,8031
„ „ 41	0	0	0,3000	0,0273	0,2268	1,4527	0,8406
„ „ 42	0	0	0,3087	0,0426	0,2660	1,4254	0,7450
„ „ 43	0	0	0,2540	0,0256	0,3274	1,4458	0,7859
Ib	**1,2895**	**schwache**	**0,0735**	**0,0338**	**0**	**1,5109**	**0,1141**
IIa	**1,2344**	„	**0,1237**	**0,0205**	**0**	**1,4936**	**0,1150**
II Nr. 28	0	„	0,2975	0,0203	0,0608	1,4788	0,5087
„ „ 29	0	„	0,4607	0,0203	0,0669	1,4737	0,5070
„ „ 30	0	starke	0,5460	0,0285	0,1072	1,4238	0,6516
„ „ 36	0	„	0,5231	0,0203	0,0777	1,4433	0,4952
„ „ 37	0	„	0,4336	0,0203	0,1142	1,4534	0,5087
„ „ 38	0	„	0,6113	0,0201	0,1173	1,4171	0,5947
„ „ 44	0	„	0,4234	0,0203	0,0980	1,4737	0,6416
„ „ 45	0	„	0,4860	0,0203	0,1142	1,4771	0,6324
„ „ 46	0	„	0,6264	0,0201	0,1240	1,4104	0,5679
IIb	**1,2310**	**schwache**	**0,1244**	**0,0201**	**0**	**1,4908**	**0,1153**

Mittelzahlen aus den

a) Bohnen-

Nummer des Nährbodens	Alter der Kultur Wochen	Bakterien-Typus	Acidität in g Citronensäure	Alkalinität in g Aetznatrium	Trocken-substanz %	Rohfett %	Leim-Stickstoff %
I	—	**Ungeimpft**	**0,084**	—	**12,43**	**0,170**	**1,4016**
Nr. 1—5	26	B. R. v. Vic. vill.	—	0,120	10,76	0,202	0,4122
„ 7—9	41	„ „ „	—	0,280	10,93	0,205	0,2475
II	—	**Ungeimpft**	**0,102**	—	**11,28**		**1,0731**
Nr. 10	7	B. R. v. Trif. inc.	—	0,040	10,58		0,9718
„ 11	9	„ „ „	—	0,080	10,06		0,6777
„ 12	13	„ „ „	—	0,192	10,07		0,5762
III	—	**Ungeimpft**	**0,098**	—	**8,37**		**1,0409**
Nr. 14	6	B. R. v. Trif. inc.	—	0,056	8,02		0,4597
„ 15	8	„ „ „	—	0,144	7,46		0,1608
„ 16	9	„ „ „	—	0,192	7,58		0,1591
„ 17—18	6	„ Pisi sativi	—	0,112	7,49		0,2688
„ 19	7	„ „ „	—	0,104	7,50		0,2902
„ 20—22	13½	„ „ „	—	0,211	7,19		0,0999
					b) Fleischwasser-		
I	—	**Ungeimpft**	—	**0,120**	**9,96**	**0,310**	**0**
Nr. 23	26	Nr. 8 (Subtilis)	—	0,216	9,27	0,115	0,0992
„ 24—27	47	„ „	—	0,236	8,68	0,189	0,0874
„ 31—35	47	Nr. 12 (Proteus)	—	0,264	8,47	0,142	0,0599
„ 39—43	48	Nr. 39 (Wurzelbac.)	—	0,251	8,97	0,133	0,0365
II	—	**Ungeimpft**	—	**0,072**	**9,23**		**0**
Nr. 28—29	6	Nr. 8 (Subtilis)	—	0,160	9,12		0,4838
„ 30	10	„ „	—	0,192	9,18		0,0687
„ 36—37	6	Nr. 12 (Proteus)	—	0,212	9,30		0,3313
„ 38	10	„ „	—	0,232	9,11		0,0603
„ 44—45	6	Nr. 39 (Wurzelbac.)	—	0,216	9,42		0,3376
„ 46	10	„ „	—	0,232	9,02		0,0586
Analysenergebnisse der Kulturen, über welche							leitet
Nr. 6	26	B. R. v. Viciae vill.	—	0,096	11,25	0,175	0,2670
„ 13	14	„ Trifol. inc.	—	0,056	9,90		0,6851

Analysen-Ergebnissen.

Gelatine.

Albumin-Stickstoff %	Albumose-Stickstoff %	Stickstoff der Peptone u. organ. Basen %	Amid-Stickstoff %	Ammoniak-Stickstoff %	Salpetrige Säure-Stickstoff %	Salpetersäure-Stickstoff %	Gesamt-Stickstoff %	Stickstoffrest %
0	**0**	**0,2896**	**0,0550**	**0**	**0**	**0**	**1,7961**	**0,0486**
0,0664	0,1922	0,8752	0,0262	0,0724	0	0,1021	1,8076	0,0587
0,0495	0,2543	0,9725	0,0273	0,0784	0	0,0898	1,7675	0,0568
0	**0**	**0,4341**	**0,0314**	**0**	**0**	**0**	**1,6263**	**0,0854**
0	0,2991	0,2704	0,0237	0	0	0	1,6232	0,0582
0,0659	0,4614	0,3240	0,0203	0,0304	0	0	1,6275	0,0478
0,0503	0,0687	0,6984	0,0201	0,0938	sehr schwach	0	1,6181	0,1106
0	**0**	**0,1539**	**0,0204**	**0**	**0**	**0**	**1,2928**	**0,0777**
0	0,2087	0,4890	0,0203	0,0341	0	0	1,2900	0,0782
0,0251	0,0469	0,7538	0,0235	0,0737	0	0	1,2831	0,1966
0,0419	0,0520	0,6280	0,0201	0,0972	sehr schwach	0	1,2764	0,2781
0,0307	0,0719	0,7220	0,0220	0,0529	0	0	1,3009	0,1327
0,0208	0,0774	0,7642	0,0220	0,0507	0	0	1,3081	0,1828
0,0330	0,0341	0,6109	0,0212	0,1329	sehr schwach	0	1,2640	0,3155

Gelatine.

0	**1,2911**	**0,0724**	**0,0343**	**0**	**0**	**0**	**1,5119**	**0,1141**
0,0124	0	0,2821	0,0507	0,1488	0	0	1,4880	0,8948
0,0375	0	0,2771	0,0691	0,2097	0	0	1,4277	0,7468
0,0212	0	0,4443	0,0334	0,1824	0	0	1,3947	0,6540
0,0256	0	0,3008	0,0375	0,2551	0	0	1,4365	0,7891
0	**1,2327**	**0,1241**	**0,0203**	**0**	**0**	**0**	**1,4922**	**0,1152**
0,0214	0	0,3791	0,0203	0,0639	0	0	1,4763	0,5079
0,0218	0	0,5460	0,0285	0,1072	0	0	1,4238	0,6516
0,0206	0	0,4784	0,0203	0,0960	0	0	1,4484	0,5040
0,0134	0	0,6113	0,0201	0,1173	0	0	1,4171	0,5947
0,0197	0	0,4547	0,0203	0,1061	0	0	1,4754	0,6370
0,0134	0	0,6264	0,0201	0,1240	0	0	1,4104	0,5679

zwecks Kohlensäure-Bestimmung Luft gewurde.

0,0634	0,3752	0,8594	0,0608	0,0321	0,0946	0,0169	1,8151	0,0457
0,0486	0,1843	0,4320	0,0469	0,0235	0	0	1,6013	0,1809

Analysen-Belege, tabellarisch geordnet.

Alkalinität bezw. Acidität.

Bohnengelatine					Fleischwasssergelatine		
Art und Nummer	Bestimmung in	Verbrauch an $^1/_{10}$-Normal-NaOH	$^1/_{10}$-Normal-Salzsäure		Art und Nummer	Bestimmung in	Verbrauch an $^1/_{10}$-Normal-Salzsäure
	ccm	ccm	ccm			ccm	ccm
Ungeimpft Ia	25	0,6			Ungeimpft Ia	25	1,5
„ Ib	„	0,6			„ Ib	„	1,5
„ IIa	„	0,7			„ IIa	„	0,9
„ IIb	„	0,75			„ IIb	„	0,9
„ IIIa	„	0,7			Geimpft Nr. 23	„	2,7
„ IIIb	„	0,7			„ „ 24	„	2,9
Geimpft Nr. 1	„		1,5		„ „ 25	„	2,9
„ „ 2	„		1,7		„ „ 26	„	3,0
„ „ 3	„		1,5		„ „ 27	„	3,0
„ „ 4	„		1,3		„ „ 28	„	2,0
„ „ 5	„		1,5		„ „ 29	„	2,0
„ „ 6	„		1,2		„ „ 30	„	2,4
„ „ 7	„		3,5		„ „ 31	„	3,2
„ „ 8	„		3,5		„ „ 32	„	3,2
„ „ 9	„		3,5		„ „ 33	„	3,3
„ „ 10	„		0,5		„ „ 34	„	3,4
„ „ 11	„		1,0		„ „ 35	„	3,4
„ „ 12	„		2,4		„ „ 36	„	2,7
„ „ 13	„		0,7		„ „ 37	„	2,6
„ „ 14	„		0,7		„ „ 38	„	2,9
„ „ 15	„		1,8		„ „ 39	„	3,5
„ „ 16	„		2,4		„ „ 40	„	3,4
„ „ 17	„		1,5		„ „ 41	„	3,4
„ „ 18	„		1,3		„ „ 42	„	2,7
„ „ 19	„		1,3		„ „ 43	„	2,7
„ „ 20	„		2,6		„ „ 44	„	2,7
„ „ 21	„		2,5		„ „ 45	„	2,7
„ „ 22	„		2,8		„ „ 46	„	2,9

Leim-Stickstoff. Bohnengelatine.

Art und Nummer	Bestimmung in ccm	Vorgelegte Schwefelsäure ccm	Der vorgelegten Säure entsprech. Barytlauge in ccm	1 ccm Barytlauge entspricht g Stickstoff	Verbrauchte Barytlauge in ccm	Gefundene Menge g Leim- u. Albumin-Stickstoff in	Leim-Stickstoff in g
Ungeimpft Ia	50	30	52,8	0,00310	4,40		1,4004
„ Ib	„	30	48,75	0,00338	7,25		1,4027
„ IIa	„	12,5	36,25	0,00341	4,75		1,0742
„ IIb	„	25	40,75	0,00335	8,75		0,0720
„ IIIa	„	12,5	36,25	0,00341	5,90		1,0349
„ IIIb	„	25	40,75	0,00335	9,50		1,0469
Geimpft Nr. 1	„	20	32,5	0,00338	18,425	0,4757	0,4124
„ „ 2	„	20	32,5	0,00338	22,775	0,3287	0,2636
„ „ 3	„	20	32,5	0,00338	15,45	0,5763	0,5053
„ „ 4	„	20	32,5	0,00338	17,05	0,5222	0,4570
„ „ 5	„	20	32,5	0,00338	18,00	0,4901	0,4225
„ „ 6	„	10	16,25	0,00338	6,475	0,3304	0,2670
„ „ 7	„	5	14,5	0,00341	7,85	0,2676	0,2182
„ „ 8	„	5	14,5	0,00341	4,925	0,3265	0,2771
„ „ 9	„	5	14,5	0,00341	5,80	0,2966	0,2472
„ „ 10	„	15	43,65	0,00338	15,20	0,9718	0,9718
„ „ 11	„	10	29,3	0,00338	7,30	0,7436	0,6777
„ „ 12	„	15	24,45	0,00335	5,75	0,6265	0,5762
„ „ 13	„	20	32,6	0,00335	10,70	0,7337	0,6851
„ „ 14	„	5	14,65	0,00338	1,05	0,4597	0,4597
„ „ 15	„	10	16,3	0,00335	10,75	0,1859	0,1608
„ „ 16	„	10	16,3	0,00335	10,30	0,2010	0,1591
„ „ 17	„	10	29,3	0,00338	9,35	0,3160	0,2854
„ „ 18	„	10	29,3	0,00338	20,90	0,2839	0,2522
„ „ 19	„	5	14,65	0,00338	5,45	0,3110	0,2902
„ „ 20	„	10	16,3	0,00335	11,30	0,1675	0,1390
„ „ 21	„	10	16,3	0,00335	12,90	0,1139	0,0871
„ „ 22	„	10	16,3	0,00335	13,10	0,1072	0,0737

Leim-Stickstoff. Fleischwassergelatine.

Art und Nummer	Bestimmung in ccm	Vorgelegte Schwefelsäure ccm	Der vorgelegten Säure entsprech. Barytlauge in ccm	1 ccm Barytlauge entspricht g Stickstoff	Verbrauchte Barytlauge in ccm	Gefundene Menge g Leim- u. Albumin-Stickstoff in	Leimstickstoff in g
Geimpft Nr. 23	50	20	35,2	0,00310	31,6	0,1116	0,0992
„ „ 24	„	5	14,5	0,00341	9,65	0,1654	0,1211
„ „ 25	„	5	14,5	0,00341	11,1	0,1159	0,0784
„ „ 26	„	5	14,5	0,00341	11,4	0,1057	0,0682
„ „ 27	„	5	14,5	0,00341	11,2	0,1125	0,0818
„ „ 28	„	10	29,3	0,00338	11,8	0,5915	0,5704
„ „ 29	„	8	23,44	0,00338	11,05	0,4188	0,3972
„ „ 30	„	10	16,3	0,00335	13,6	0,0905	0,0687
„ „ 31	„	2,5	7,25	0,00341	4,0	0,1108	0,0869
„ „ 32	„	2,5	7,25	0,00341	5,2	0,0699	0,0545
„ „ 33	„	2,5	7,25	0,00341	5,1	0,0733	0,0512
„ „ 34	„	2,5	7,25	0,00341	4,8	0,0835	0,0580
„ „ 35	„	2,5	7,25	0,00341	5,35	0,0648	0,0460
„ „ 36	„	5	14,65	0,00338	4,25	0,3515	0,3025
„ „ 37	„	8	23,44	0,00338	12,3	0,3766	0,0630
„ „ 38	„	10	16,3	0,00335	14,1	0,0737	0,0603
„ „ 39	„	2,5	7,25	0,00341	5,4	0,0631	0,0443
„ „ 40	„	2,5	7,25	0,00341	5,1	0,0733	0,0426
„ „ 41	„	2,5	7,25	0,00341	5,55	0,0580	0,0392
„ „ 42	„	5,5	7,25	0,00341	5,4	0,0631	0,0256
„ „ 43	„	2,5	7,25	0,00341	5,7	0,0529	0,0307
„ „ 44	„	5	14,65	0,00338	3,1	0,3904	0,3676
„ „ 45	„	8	23,44	0,00338	12,65	0,3242	0,3076
„ „ 46	„	10	16,3	0,00335	14,15	0,0720	0,0586

Albumin-Stickstoff. Bohnengelatine.

Art und Nummer	Bestimmung in ccm	Vorgelegte Schwefelsäure in ccm	Der Säure entsprechende Barytlauge ccm	1 ccm Barytlauge entspricht Stickstoff g	Zurücktitrierte Barytlauge ccm	Albumin-Stickstoff g
Geimpft Nr. 1	50	5	8,125	0,00338	6,25	0,0634
„ „ 2	„	5	8,125	0,00338	6,20	0,0651
„ „ 3	„	5	8,125	0,00338	6,025	0,0710
„ „ 4	„	5	8,125	0,00338	6,2	0,0651
„ „ 5	„	5	8,125	0,00338	6,125	0,0676
„ „ 6	„	5	8,125	0,00338	6,25	0,0634
„ „ 7	„	5	14,5	0,00341	13,05	0,0495
„ „ 8	„	5	14,5	0,00341	13,05	0,0495
„ „ 9	„	5	14,5	0,00341	13,05	0,0495
„ „ 10	„					0
„ „ 11	„	2	5,86	0,00338	3,91	0,0659
„ „ 12	„	5	8,15	0,00335	6,65	0,0503
„ „ 13	„	5	8,15	0,00335	6,7	0,0486
„ „ 14	„					0
„ „ 15	„	5	8,15	0,00335	7,4	0,0251
„ „ 16	„	5	8,15	0,00335	6,9	0,0419
„ „ 17	„	2,5	7,25	0,00341	6,35	0,0307
„ „ 18	„	2,5	7,25	0,00341	6,35	0,0307
„ „ 19	„	3	8,79	0,00338	8,175	0,0208
„ „ 20	„	5	8,15	0,00335	7,3	0,0285
„ „ 21	„	5	8,15	0,00335	7,05	0,0369
„ „ 22	„	5	8,15	0,00335	7,15	0,0335

Albumin-Stickstoff. Fleischwassergelatine.

Art und Nummer	Bestimmung in ccm	Vorgelegte Schwefelsäure ccm	Der Säure entsprechende Barytlauge ccm	1 ccm Barytlaage entspricht Stickstoff g	Zurücktitrierte Barytlauge ccm	Albumin-Stickstoff g
Geimpft Nr. 23	50	10	17,6	0,00310	17,2	0,0124
„ „ 24	„	3	8,7	0,00341	7,4	0,0443
„ „ 25	„	3	8,7	0,00341	7,6	0,0375
„ „ 26	„	2,5	7,25	0,00341	6,15	0,0375
„ „ 27	„	2,5	7,25	0,00341	6,35	0,0307
„ „ 28	„	2,5	7,325	0,00338	6,70	0,0211
„ „ 29	„	3	8,79	0,00338	8,15	0,0216
„ „ 30	„	3	4,9	0,00335	4,25	0,0218
„ „ 31	„	2,5	7,25	0,00341	6,55	0,0239
„ „ 32	„	2,5	7,25	0,00341	6,8	0,0154
„ „ 33	„	2,5	7,25	0,00341	6,6	0,0222
„ „ 34	„	2,5	7,25	0,00341	6,5	0,0256
„ „ 35	„	2,5	7,25	0,00341	6,7	0,0188
„ „ 36	„	2,5	7,325	0,00338	6,6	0,0245
„ „ 37	„	3	8,79	0,00338	8,3	0,0166
„ „ 38	„	3	4,9	0,00335	4,5	0,0134
„ „ 39	„	2,5	7,25	0,00341	6,7	0,0188
„ „ 40	„	2,5	7,25	0,00341	6,35	0,0307
„ „ 41	„	2,5	7,25	0,00341	6,7	0,0188
„ „ 42	„	2,5	7,25	0,00341	6,15	0,0375
„ „ 43	„	2,5	7,25	0,00341	6,6	0,0222
„ „ 44	„	2,5	7,325	0,00338	6,65	0,0228
„ „ 45	„	3	8,79	0,00338	8,3	0,0166
„ „ 46	„	3	4,9	0,00335	4,5	0,0134

Albumose-Stickstoff.

Art und Nummer	Bestimmung in ccm	Vorgelegte Schwefelsäure ccm	Der Säure entsprechende Barytlauge ccm	1 ccm Barytlauge entspricht g Stickstoff	Zurücktitrierte Barytlauge ccm	Albumose- u. Leim- g stickstoff des gesamten Nährbodens	Albumose-Stickstoff g
Bohnengelatine							
Geimpft Nr. 1	50	20	32,5	0,00338	16,5	0,5408	0,1284
„ „ 2	„	20	32,5	0,00338	18,8	0,4631	0,1995
„ „ 3	„	20	32,5	0,00338	12,6	0,6726	0,1673
„ „ 4	„	20	32,5	0,00338	10,525	0,7428	0,2858
„ „ 5	„	20	32,5	0,00338	14,675	0,6025	0,1800
„ „ 6	„	20	32,5	0,00338	13,5	0,6422	0,3752
„ „ 7	„	10	29,0	0,00341	14,45	0,4961	0,2779
„ „ 8	„	10	29,0	0,00341	14,75	0,4859	0,2088
„ „ 9	„	10	29,0	0,00341	13,65	0,5234	0,2762
„ „ 10	„	20	58,6	0,00338	21,0	1,2709	0,2991
„ „ 11	„	20	58,6	0,00338	37,0	1,1391	0,4614
„ „ 12	„	20	32,6	0,00335	13,35	0,6449	0,0687
„ „ 13	„	20	32,6	0,00335	6,65	0,8694	0,1843
„ „ 14	„	10	29,3	0,00338	9,525	0,6684	0,2087
„ „ 15	„	10	16,3	0,00335	10,1	0,2077	0,0469
„ „ 16	„	10	16,3	0,00335	10,0	0,2111	0,0520
„ „ 17	„	10	29,3	0,00338	18,55	0,3634	0,0580
„ „ 18	„	10	29,3	0,00338	19,3	0,3380	0,0858
„ „ 19	„	10	29,3	0,00338	18,425	0,3676	0,0774
„ „ 20	„	10	16,3	0,00335	11,3	0,1675	0,0285
„ „ 21	„	10	16,3	0,00335	12,7	0,1206	0,0335
„ „ 22	„	10	16,3	0,00335	12,9	0,1139	0,0402
Fleischwasser-gelatine							
Ungeimpft Ia	„	30	52,8	0,00310	11,1		1,2927
„ Ib	„	30	50,1	0,00338	11,95		1,2895
„ IIa	„	15	43,5	0,00341	7,5		1,2344
„ IIb	„	15	43,5	0,00341	7,4		1,2310

Stickstoff der Peptone und organischen Basen.

Bohnengelatine.

Art und Nummer	Bestimmung in ccm	Vorgelegte Schwefelsäure ccm	Der Säure entsprechende Barytlauge ccm	1 ccm Barytlauge entspricht g Stickstoff	Zurücktitrierte Barytlauge ccm	Stickstoff der g Phosphorwolframsäurefällung	Stickstoff der g Peptone u. organischen Basen
Ungeimpft Ia	50	40	70,4	0,00310	15,7	1,6957	0,2953
„ Ib	„	40	65,0	0,00338	15,1	1,6866	0,2839
„ IIa	„	20	58,0	0,00341	13,75	1,5089	0,4347
„ IIb	„	30	48,9	0,00335	3,9	1,5075	0,4335
„ IIIa	„	15	43,5	0,00341	8,5	1,1935	0,1586
„ IIIb	„	30	48,9	0,00335	13,2	1,1960	0,1491
Geimpft Nr. 1	„	40	65,0	0,00338	18,0	1,5886	0,9286
„ „ 2	„	40	65,0	0,00338	17,7	1,5987	0,9742
„ „ 3	„	40	65,0	0,00338	16,0	1,6562	0,8382
„ „ 4	„	40	65,0	0,00338	17,3	1,6123	0,7454
„ „ 5	„	40	65.0	0,00338	16,25	1,6478	0,8898
„ „ 6	„	40	65,0	0,00338	17,75	1,5971	0,8594
„ „ 7	„	20	58,0	0,00341	11,55	1,5840	0,9566
„ „ 8	„	20	58,0	0,00341	10,35	1,6249	1,0077
„ „ 9	„	20	58,0	0,00341	11,9	1,5720	0,9531
„ „ 10	„	20	58,6	0,00338	13,0	1,5413	0,2704
„ „ 11	„	30	48,9	0,00335	2,35	1,5594	0,3240
„ „ 12	„	30	48,9	0,00335	4,4	1,4874	0,6984
„ „ 13	„	30	48,9	0,00335	7,9	1,3735	0,4320
„ „ 14	„	15	43,95	0,00338	8,7	1,1915	0,4890
„ „ 15	„	30	48,9	0,00335	17,25	1,0630	0,7538
„ „ 16	„	30	48,9	0,00335	19,7	0,9782	0,6280
„ „ 17	„	15	43,95	0,00338	10,475	1,1315	0,7062
„ „ 18	„	15	43,95	0,00338	9,6	1,1610	0,7377
„ „ 19	„	15	43,95	0,00338	8,35	1,2033	0,7642
„ „ 20	„	20	32,6	0,00335	3,55	0,9732	0,6537
„ „ 21	„	20	32,6	0,00335	6,0	0,8911	0,6029
„ „ 22	„	20	32,6	0,00335	6,7	0,8676	0,5761

Stickstoff der Peptone und organischen Basen.

Fleischwassergelatine.

Art und Nummer	Bestimmung in ccm	Vorgelegte Schwefelsäure ccm	Der Säure entsprechende Barytlauge ccm	1 ccm Barytlauge entspricht g Stickstoff	Zurücktitrierte Barytlauge ccm	Stickstoff der Phosphorwolframsäurefällung g	Stickstoff der Peptone u. organischen Basen g
Ungeimpft Ia	50	30	52,8	0,00310	8,8	1,3640	0,0713
„ Ib	„	30	50,1	0,00338	9,775	1,3630	0,0735
„ IIa	„	16	46,88	0,00338	6,7	1,3581	0,1237
„ IIb	„	15	43,95	0,00338	3,85	1,3554	0,1244
Geimpft Nr. 23	„	40	70,4	0,00310	52,9	0,5425	0,2821
„ „ 24	„	10	29,0	0,00341	11,6	0,5933	0,2506
„ „ 25	„	10	29,0	0,00341	10,65	0,6257	0,3086
„ „ 26	„	10	29,0	0,00341	11,5	0,5968	0,2560
„ „ 27	„	10	29,0	0,00341	10,8	0,6206	0,2830
„ „ 28	„	10	29,3	0,00338	1,2	0,9498	0,2975
„ „ 29	„	10	29,3	0,00338	1,3	0,9464	0,4607
„ „ 30	„	20	32,6	0,00335	10,4	0,7437	0,5460
„ „ 31	„	10	29,0	0,00341	8,2	0,7093	0,4297
„ „ 32	„	10	29,0	0,00341	9,1	0,6786	0,4467
„ „ 33	„	10	29,0	0,00341	9,45	0,6667	0,4177
„ „ 34	„	10	29,0	0,00341	8,675	0,6931	0,4049
„ „ 35	„	10	29,0	0,00341	5,875	0,7886	0,5226
„ „ 36	„	15	43,95	0,00338	16,5	0,9278	0,5231
„ „ 37	„	15	43,95	0,00338	16,6	0,9244	0,4336
„ „ 38	„	20	32,6	0,00335	8,65	0,8023	0,6113
„ „ 39	„	10	29,0	0,00341	9,95	0,6496	0,3495
„ „ 40	„	10	29,0	0,00341	11,9	0,5831	0,2916
„ „ 41	„	10	29,0	0,00341	11,85	0,5848	0,3000
„ „ 42	„	10	29,0	0,00341	10,3	0,6378	0,3087
„ „ 43	„	10	29,0	0,00341	10,4	0,6343	0,2540
„ „ 44	„	15	43,95	0,00338	16,975	0,9118	0,4234
„ „ 45	„	15	43,95	0,00338	16,6	0,9244	0,4860
„ „ 46	„	20	32,6	0,00335	8,05	0,8224	0,6264

Amid-Stickstoff. Bohnengelatine.

Art und Nummer	Bestimmung in ccm	Vorgelegte Schwefelsäure ccm	Der Säure entsprechende Barytlauge ccm	1 ccm Barytlauge entspricht g Stickstoff	Zurücktitrierte Barytlauge ccm	Amid-Stickstoff g
Ungeimpft Ia	25	5	8,8	0,00310	7,9	0,0558
„ Ib	„	5	8,125	0,00338	7,325	0,0541
„ IIa	„	2,5	7,25	0,00341	6,8	0,0307
„ IIb	„	5	14,65	0,00338	14,175	0,0321
„ IIIa	„	2,5	7,25	0,00341	6,95	0,0205
„ IIIb	„	5	14,65	0,00338	14,35	0,0203
Geimpft Nr. 1	„	5	8,125	0,00338	7,725	0,0270
„ „ 2	„	5	8,125	0,00338	7,725	0,0270
„ „ 3	„	5	8,125	0,00338	7,725	0,0270
„ „ 4	„	5	8,125	0,00338	7,725	0,0270
„ „ 5	„	5	8,125	0,00338	7,75	0,0254
„ „ 6	„	5	8,125	0,00338	7,225	0,0608
„ „ 7	„	2,5	7,25	0,00341	6,85	0,0273
„ „ 8	„	2,5	7,25	0,00341	6,85	0,0273
„ „ 9	„	2,5	7,25	0,00341	6,85	0,0273
„ „ 10	„	5	14,65	0,00338	14,3	0,0237
„ „ 11	„	5	14,65	0,00338	14,35	0,0203
„ „ 12	„	5	8,15	0,00335	7,85	0,0201
„ „ 13	„	5	8,15	0,00335	7,45	0,0469
„ „ 14	„	5	14,65	0,00338	14,35	0,0203
„ „ 15	„	5	8,15	0,00335	7,8	0,0235
„ „ 16	„	5	8,15	0,00335	7,85	0,0201
„ „ 17	„	5	14,65	0,00338	14,35	0,0203
„ „ 18	„	5	14,65	0,00338	14,3	0,0237
„ „ 19	„	5	14,65	0,00338	14,325	0,0220
„ „ 20	„	5	8,15	0,00335	7,8	0,0235
„ „ 21	„	5	8,15	0,00335	7,85	0,0201
„ „ 22	„	5	8,15	0,00335	7,85	0,0201

Amid-Stickstoff. Fleischwassergelatine.

Art und Nummer	Bestimmung in ccm	Vorgelegte Schwefelsäure ccm	Der Säure entsprechende Barytlauge ccm	1 ccm Barytlauge entspricht g Stickstoff	Zurücktitrierte Barytlauge ccm	Amid-Stickstoff g
Ungeimpft Ia	25	6	10,56	0,00310	10,0	0,0347
„ Ib	„	5	8,125	0,00338	7,625	0,0338
„ IIa	„	2,5	7,25	0,00341	6,95	0,0205
„ IIb	„	5	8,15	0,00335	7,85	0,0201
Geimpft Nr. 23	„	5	8,125	0,00338	7,275	0,0507
„ „ 24	„	2,5	7,25	0,00341	5,95	0,0887
„ „ 25	„	2,5	7,25	0,00341	6,25	0,0682
„ „ 26	„	2,5	7,25	0,00341	6,25	0,0682
„ „ 27	„	2,5	7,25	0,00341	6,5	0,0512
„ „ 28	„	5	14,65	0,00338	14,35	0,0203
„ „ 29	„	5	14,65	0,00338	14,35	0,0203
„ „ 30	„	5	8,15	0,00335	7,725	0,0285
„ „ 31	„	2,5	7,25	0,00341	6,8	0,0307
„ „ 32	„	2,5	7,25	0,00341	6,85	0,0273
„ „ 33	„	2,5	7,25	0,00341	6,65	0,0409
„ „ 34	„	2,5	7,25	0,00341	6,65	0,0409
„ „ 35	„	2,5	7,25	0,00341	6,85	0,0273
„ „ 36	„	5	14,65	0,00338	14,35	0,0203
„ „ 37	„	5	14,65	0,00338	14,35	0,0203
„ „ 38	„	5	8,15	0,00335	7,85	0,0201
„ „ 39	„	2,5	7,25	0,00341	6,575	0,0460
„ „ 40	„	2,5	7,25	0,00341	6,575	0,0460
„ „ 41	„	2,5	7,25	0,00341	6,85	0,0273
„ „ 42	50	2,5	7,25	0,00341	6,0	0,0426
„ „ 43	„	2,5	7,25	0,00341	6,5	0,0256
„ „ 44	25	5	14,65	0,00338	14,35	0,0203
„ „ 45	„	5	14,65	0,00338	14,35	0,0203
„ „ 46	„	5	8,15	0,00335	7,85	0,0201

Ammoniak-Stickstoff. Bohnengelatine.

Art und Nummer	Bestimmung in ccm	Vorgelegte Schwefelsäure ccm	Der Säure entsprechende Barytlauge ccm	1 ccm Barytlauge entspricht g Stickstoff	Zurücktitrierte Barytlauge ccm	Ammoniak-Stickstoff g
Geimpft Nr. 1	25	5	8,125	0,00338	7,3	0,0558
„ „ 2	„	5	8,125	0,00338	6,7	0,0963
„ „ 3	„	5	8,125	0,00338	7,025	0,0744
„ „ 4	„	5	8,125	0,00338	7,275	0,0575
„ „ 5	„	5	8,125	0,00338	6,825	0,0879
„ „ 6	„	5	8,125	0,00338	7,65	0,0321
„ „ 7	„	5	14,5	0,00341	13,3	0,0818
„ „ 8	„	5	14,5	0,00341	13,3	0,0818
„ „ 9	„	5	14,5	0,00341	13,4	0,0750
„ „ 10	„					0
„ „ 11	„	5	14,65	0,00338	14,2	0,0304
„ „ 12	„	5	8,15	0,00335	6,75	0,0938
„ „ 13	50	5	8,15	0,00335	7,45	0,0235
„ „ 14	„	2,5	7,25	0,00341	1,0	0,0341
„ „ 15	25	5	8,15	0,00335	7,05	0,0737
„ „ 16	„	5	8,15	0,00335	6,75	0,0972
„ „ 17	50	5	14,5	0,00341	13,0	0,0512
„ „ 18	„	5	14,5	0,00341	12,9	0,0546
„ „ 19	25	5	14,65	0,00338	13,9	0,0507
„ „ 20	„	5	8,15	0,00335	6,3	0,1240
„ „ 21	„	5	8,15	0,00335	6,2	0,1307
„ „ 22	„	5	8,15	0,00335	6,0	0,1441

Ammoniak-Stickstoff. Fleischwassergelatine.

Art und Nummer	Bestimmung in ccm	Vorgelegte Schwefelsäure ccm	Der Säure entsprechende Barytlauge ccm	1 ccm Barytlauge entspricht g Stickstoff	Zurücktitrierte Barytlauge ccm	Ammoniak-Stickstoff g
Geimpft Nr. 23	50	5	8,8	0,00310	6,4	0,1488
„ „ 24	25	3	8,7	0,00341	6,1	0,1773
„ „ 25	„	2,5	7,25	0,00341	4,3	0,2012
„ „ 26	„	2,5	7,25	0,00341	3,8	0,2353
„ „ 27	„	2,5	7,25	0,00341	3,95	0,2251
„ „ 28	„	5	14,65	0,00338	13,75	0,0608
„ „ 29	„	3	8,79	0,00338	7,8	0,0669
„ „ 30	„	5	8,15	0,00335	6,55	0,1072
„ „ 31	50	2,5	7,25	0,00341	2,3	0,1688
„ „ 32	„	2.5	7,25	0,00341	2,5	0,1620
„ „ 33	„	3	8,7	0,00341	3,55	0,1756
„ „ 34	„	4	11,6	0,00341	8,6	0,2046
„ „ 35	„	2,5	7,25	0,00341	1,35	0,2012
„ „ 36	25	5	14,65	0,00338	13,5	0,0777
„ „ 37	„	3	8,79	0,00338	7,1	0,1142
„ „ 38	„	5	8,15	0,00335	6,4	0,1173
„ „ 39	50	5	14,5	0,00341	7,55	0,2370
„ „ 40	„	5	14,5	0,00341	8,1	0,2182
„ „ 41	„	5	14,5	0,00341	7,85	0,2268
„ „ 42	„	5	14,5	0,00341	6,7	0,2660
„ „ 43	„	5	14,5	0,00341	4,9	0,3274
„ „ 44	25	5	14,65	0,00338	13,2	0,0980
„ „ 45	„	3	8,79	0,00338	7,1	0,1142
„ „ 46	„	5	8,15	0,00335	6,3	0,1240

Salpetersäure-Stickstoff. Bohnengelatine.

Art und Nummer	Bestimmung in ccm	Vorgelegte Schwefelsäure ccm	Der Säure entsprechende Barytlauge ccm	1 ccm Barytlauge entspricht g Stickstoff	Zurücktitrierte Barytlauge ccm	Ammoniak- und Salpetersäure-Stickstoff ccm	Salpetersäure-Stickstoff ccm
Geimpft Nr. 1	25	21	34,125	0,00338	31,2	0,1977	0,1420
„ „ 2	„	20	32,5	0,00338	29,2	0,2231	0,1268
„ „ 3	„	5	8,125	0,00338	5,95	0,1470	0,0727
„ „ 4	„	5	8,125	0,00338	6,1	0,1369	0,0794
„ „ 5	„	5	8,125	0,00338	5,5	0,1775	0,0896
„ „ 6	„	5	8,125	0,00338	6,0	0,1436[1])	0,0169
„ „ 7	„	5	14,5	0,00341	11,85	0,1807	0,0989
„ „ 8	„	5	14,5	0,00341	12,0	0,1705	0,0887
„ „ 9	„	5	14,5	0,00341	12,2	0,1569	0,0819

[1]) In dieser Zahl ist der Stickstoff der Salpetrigen Säure mit einbegriffen.

Gesamt-Stickstoff. Bohnengelatine.

Art und Nummer	Bestimmung in ccm	Vorgelegte Schwefelsäure ccm	Der Säure entsprechende Barytlauge ccm	1 ccm Barytlauge entspricht g Stickstoff	Zurücktitrierte Barytlauge ccm	Gesamt-Stickstoff g
Ungeimpft Ia	25	20	35,2	0,00310	6,2	1,7980
„ Ib	„	20	32,5	0,00338	6,0	1,7914
„ IIa	„	15	43,5	0,00341	19,625	1,6283
„ IIb	„	20	32,6	0,00335	8,4	1,6214
„ IIIa	„	15	43,5	0,00341	27,5	1,2958
„ IIIb	„	20	32,6	0,00335	13,35	1,2898
Geimpft Nr. 1	„	20	32,5	0,00338	5,8	1,8049
„ „ 2	„	20	32,5	0,00338	5,7	1,8117
„ „ 3	„	20	32,5	0,00338	5,6	1,8184
„ „ 4	„	20	32,5	0,00338	5,95	1,7948
„ „ 5	„	20	32,5	0,00338	5,85	1,8083
„ „ 6	„	20	32,5	0,00338	5,75	1,8151
„ „ 7	„	10	29,0	0,00341	3,10	1,7664
„ „ 8	„	10	29,0	0,00341	3,0	1,7732
„ „ 9	„	10	29,0	0,00341	3,15	1,7630
„ „ 10	„	10	29,0	0,00341	5,2	1,6232
„ „ 11	„	10	29,3	0,00338	5,225	1,6275
„ „ 12	„	20	32,6	0,00335	8,45	1,6181
„ „ 13	„	20	32,6	0,00335	8,7	1,6013
„ „ 14	„	10	29,0	0,00341	10,1	1,2900
„ „ 15	„	20	32,6	0,00335	13,45	1,2831
„ „ 16	„	20	32,6	0,00335	13,55	1,2764
„ „ 17	„	10	29,0	0,00341	10,0	1,2958
„ „ 18	„	10	29,0	0,00341	9,85	1,3060
„ „ 19	„	10	29,3	0,00338	9,95	1,3081
„ „ 20	„	20	32,6	0,00335	13,85	1,2563
„ „ 21	„	20	32,6	0,00335	14,0	1,2462
„ „ 22	„	20	32,6	0,00335	14,1	1,2395

Gesamt-Stickstoff. Fleischwassergelatine.

Art und Nummer	Bestimmung in ccm	Vorgelegte Schwefelsäure ccm	Der Säure entsprechende Barytlauge ccm	1 ccm Barytlauge entspricht g Stickstoff	Zurücktitrierte Barytlauge ccm	Gesamt-Stickstoff g
Ungeimpft Ia	25	20	35,2	0,00310	10,8	1,5128
„ Ib	„	20	32,5	0,00338	10,15	1,5109
„ IIa	„	10	29,0	0,00341	7,1	1,4936
„ IIb	„	20	32,6	0,00335	10,375	1,4908
Geimpft Nr. 23	„	20	35,2	0,00310	11,2	1,4880
„ „ 24	„	10	29,0	0,00341	8,1	1,4254
„ „ 25	„	10	29,0	0,00341	8,05	1,4288
„ „ 26	„	10	29,0	0,00341	8,1	1,4254
„ „ 27	„	10	29,0	0,00341	8,175	1,4203
„ „ 28	„	10	29,3	0,00338	7,425	1,4788
„ „ 29	„	10	29,3	0,00338	7,5	1,4737
„ „ 30	„	20	32,6	0,00335	11,35	1,4238
„ „ 31	„	10	29,0	0,00341	8,85	1,3742
„ „ 32	„	10	29,0	0,00341	8,9	1,3708
„ „ 33	„	10	29,0	0,00341	8,2	1,4186
„ „ 34	„	10	29,0	0,00341	8,8	1,3776
„ „ 35	„	10	29,0	0,00341	8,0	1,4322
„ „ 36	„	10	29,3	0,00338	7,95	1,4433
„ „ 37	„	10	29,3	0,00338	7,8	1,4534
„ „ 38	„	20	32,6	0,00335	11,45	1,4171
„ „ 39	„	10	29,0	0,00341	7,5	1,4663
„ „ 40	„	10	29,0	0,00341	8,0	1,4322
„ „ 41	„	10	29,0	0,00341	7,7	1,4527
„ „ 42	„	10	29,0	0,00341	8,1	1,4254
„ „ 43	„	10	29,0	0,00341	7,8	1,4458
„ „ 44	„	10	29,3	0,00338	7,5	1,4737
„ „ 45	„	10	29,3	0,00338	7,45	1,4771
„ „ 46	„	20	32,6	0,00335	11,55	1,4104

Gesamt-Stickstoff in flüssigen Nährböden.

Bakterienart	Vorgelegte Schwefelsäure ccm	Der Säure entsprechende Barytlauge ccm	1 ccm Barytlauge entspricht g Stickstoff	Zurücktitrierte Barytlauge ccm	Gesamt-Stickstoff g
Trifolium incarnatum	20	32,6	0,00335	6,45	0,0876025
„ „	20	32,6	0,00335	6,2	0,0884400
„ „	20	32,6	0,00335	8,5	0,0807350
„ „	20	32,6	0,00335	8,3	0,0814050
„ „	20	32,6	0,00335	8,2	0,0817400
Pisum sativum	20	32,6	0,00335	6,4	0,0877700
„ „	20	32,6	0,00335	6,5	0,0874350
„ „	20	32,6	0,00335	8,5	0,0807350
„ „	20	32,6	0,00335	8,6	0,0804000
„ „	20	32,6	0,00335	8,5	0,0807350

Die vorliegende Arbeit wurde im Laboratorium der landwirtschaftlichen Versuchsstation zu Marburg a. d. Lahn ausgeführt.

Dem Vorsteher der genannten Station, Herrn Professor Dr. *Th. Dietrich*, sowie dem ersten Assistenten derselben, Herrn Dr. *A. Hebebrand*, spreche ich an dieser Stelle meinen innigsten Dank aus für die Förderung, welche dieselben meinen Untersuchungen haben zuteil werden lassen.

Universitäts-Buchdruckerei von Joh. Aug. Koch, Marburg (Hessen).